

**PATENT ABSTRACTS OF JAPAN****(11)Publication number : 06-007429****(43)Date of publication of application : 18.01.1994**

---

**(51)Int.Cl.****A61M 1/02  
A61K 35/14  
A61M 1/34**

---

**(21)Application number : 05-081108****(71)Applicant : ASAHI MEDICAL CO LTD****(22)Date of filing : 17.03.1993****(72)Inventor : ONODERA HIROKAZU  
YOSHIDA HAJIME**

---

**(30)Priority****Priority number : 04 90093    Priority date : 17.03.1992    Priority country : JP**

---

**(54) BLOOD FILTER MEDIUM****(57)Abstract:****PURPOSE:** To provide a filter medium excellent in the wettability of blood and causing no increase of quinine when blood or blood plasma is filtered.**CONSTITUTION:** A porous blood filter medium is made of polymer and has the average pore diameter of 1-100  $\mu$  m and the total pore volume of 0.4-0.95ml/ml, the pores having the pore diameter of 1-100  $\mu$  m occupy 75% of the total pore volume, the surface has negative charges, and the total charge quantity is -30  $\mu$  eq/g or above.

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-7429

(43)公開日 平成6年(1994)1月18日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
A 6 1 M 1/02	3 1 5	9052-4C		
A 6 1 K 35/14		7431-4C		
A 6 1 M 1/34	3 1 0	9052-4C		

審査請求 未請求 請求項の数1(全26頁)

(21)出願番号	特願平5-81108	(71)出願人	000116806 旭メディカル株式会社 東京都千代田区内幸町1丁目1番1号
(22)出願日	平成5年(1993)3月17日	(72)発明者	小野寺 博和 大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内
(31)優先権主張番号	特願平4-90093	(72)発明者	吉田 一 大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内
(32)優先日	平4(1992)3月17日	(74)代理人	弁理士 佐々木 俊哲
(33)優先権主張国	日本(JP)		

(54)【発明の名称】 血液濾過材

(57)【要約】

【目的】 血液の滯れ性に優れ、且つ血液または血漿の濾過時にキニンの上昇を起こさない濾過材を提供する。

【構成】 平均孔径が $1\sim 100\mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.4\sim 0.95\text{ml/ml}$ 、細孔直径が $1\sim 100\mu\text{m}$ の孔が全細孔容積の75%以上を占める高分子からなる多孔性の血液濾過材であって、表面に陰性荷電を有し、且つその総荷電量が $-30\mu\text{eq/g}$ 以上である血液濾過材。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 平均孔径が $1\sim 100\mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.4\sim 0.95\text{ml/ml}$ 、細孔直径が $1\sim 100\mu\text{m}$ の孔が全細孔容積の75%以上を占める高分子からなる多孔性の血液濾過材であって、表面に陰性荷電を有し、且つその総荷電量が $-30\mu\text{eq/g}$ 以上である血液濾過材。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、血液中の不要物質を除去するための血液濾過材に関する。

## 【0002】

【従来の技術】輸血分野において、輸血に伴い頭痛、吐き気、悪寒、非溶血性発熱反応、アロ抗原感作、輸血後対宿主移植片拒否反応(GVHD)、ウイルス感染等の重篤な副作用が発症することが知られている。この副作用予防のため、ポリエステル製の不織布やコットン綿などの濾過材による、輸血血液中からの白血球の除去が行われている。

【0003】また、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、多発性硬化症などの自己免疫疾患、白血病、癌などの治療、あるいは移植前の免疫機能低下の目的で、不織布などの濾過材を用いた血液中の白血球の除去が行われている。

【0004】心臓外科分野においても、例えば冠動脈バイパス手術後に灌流する血液より白血球を除去する試みがなされている。これは白血球が手術部位で活性化された結果、スーパーオキシド(超酸化物)を放出し、このスーパーオキシドが手術部位に損傷を与えるため、あらかじめ白血球を除去しておこうとするものである。また種々の外科手術後に、術野に流出した血液を回収し、患者に返血する事も行われている。この際、術野に流出した血液中には手術により発生した組織片、骨破片、その他のゴミなどが混入しているため、これらを濾過材で濾過して除くことが実施されている。更に、体外循環による血漿成分の吸着除去療法において、吸着材を容器に充填したものが利用されている。この容器の血漿流出部や容器の後方にも、吸着材やその破片などの濡れ防止用に濾過材が設けられている。これらの濾過材には綿あるいは不織布などの繊維状のもの、スポンジなどの連続孔を有する多孔体などが利用あるいは研究されている。これら濾過材は一般に血液の濡れ性を高めるための親水化を、表面に陰性荷電を導入する事によって行っている。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】ところでガラスなど、表面に多量の陰性荷電を有する材料表面と血液とが接触すると、血液凝固第XII因子の活性化が起こり、活性化血液凝固第XII因子によってプレカリクレインからカリクレインが生成され、更にカリクレインによって高

分子量キニノーゲンが限定分解されてキニン(血液キニン: Bradykinin)が生成される事が知られている。このキニンは、血圧低下、顔面紅潮、結膜充血、平滑筋収縮、発痛等のアナフィラキシー反応の原因物質、即ちアナフィラトキシンの一つであることも知られている。しかし一方でキニンの生成と材料表面の陰性荷電量との定量的な知見は十分に知られておらず、特に臨床的に使用できる濾過材料について至適な表面の陰性荷電量についての検討はなされていない。更に臨床的にアナフィラキシー反応による症状とキニン量との間の定量的な関係についても知られていない。本発明者等の知見によるとキニンの血漿濃度が $1,000\text{pg/ml}$ 以上特に $4,000\text{pg/ml}$ を越えると特に重篤なアナフィラキシー反応症状が現れた。本発明者等の研究によると、前記の用途に利用されている公知の血液濾過材料は、血液の濡れ性が良好な反面、材料表面の陰性荷電量が多く、キニンの上昇を引き起こし、このためしばしばキニン上昇に起因するアナフィラキシーを引き起こす事が判明した。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明の目的は、血液の濡れ性に優れ、且つ血液または血漿の濾過時にキニンの上昇を起こさない濾過材を提供することにある。即ち本発明の要旨は下記のとおりのものである。平均孔径が $1\sim 100\mu\text{m}$ 、全細孔容積が $0.4\sim 0.95\text{ml/ml}$ 、細孔直径が $1\sim 100\mu\text{m}$ の孔が全細孔容積の75%以上を占める高分子からなる多孔性の血液濾過材であって、表面に陰性荷電を有し、且つその総荷電量が $-30\mu\text{eq/g}$ 以上の血液濾過材である。本発明において総荷電量とは陽性荷電量をプラス(+)、陰性荷電量をマイナス(-)で表わした時の両荷電が相殺された後の荷電量をいう。従って総荷電量が $-30\mu\text{eq/g}$ 以上とは、陰性荷電の絶対量が $30\mu\text{eq/g}$ より多くないことを意味する。本発明でいう血液濾過材とは血液又は血漿と接触して、サイズによる分画、粘着、付着、或いは静電的、疎水的などの化学的、物理的、更には生物学的相互作用による吸着、等により、或いはこれらの複数の作用によって血液の成分、不純物、共雑物等の一部又は全部を分離するための材料をいう。血液濾過器とは、上記濾過材を容器に装着或いは充填した血液の導出入口を有する血液の処理器をいう。又本発明にいう血液には、全血、血漿の他赤血球製剤、血小板製剤など、血液成分を含む懸濁液、溶液の全てが含まれる。本発明の濾過材の具体的用途としては血液中からの白血球、血小板などの血球成分、凝固因子を介した血液中の凝集物(マイクロアグリゲート)や混入した骨破片、肉片などの組織片、医療材料から発生した固形物片等の血漿中の微粒子等の、除去、分画、分離、採取に用いられる。又、濾過材の具体例としては、織布、不織布、綿等の濾布型、スポンジ、多孔質膜等の多孔体のビーズ状、中空糸状の

物などが挙げられる。又モノクローナル抗体等を表面に不溶化して特定の白血球分画のみを特異的に採取、分離する場合も含む。

#### 【0007】表面陰性荷電量測定法

表面の陰性荷電量の測定方法としては、酸アルカリによる中和滴定、逆滴定、酸化還元滴定、色素吸着、ゼータ電位による測定、核磁気共鳴スペクトル法、赤外吸光スペクトル測定法、X線光電子分光(ESCA)、電子線プローブマイクロアナリシス(EPMA)、二次イオン質量分析(SIMS)、オージェ電子分光(AES)、  
10 蛍光X線分析等の方法が知られており、いずれの方法でも測定可能である。しかし中和滴定、逆滴定、酸化還元滴定、ゼータ電位による測定、色素吸着などは、検出感度が低く、且つ精度的にも必ずしも満足できるものではない。又核磁気共鳴スペクトル法、赤外吸光スペクトル測定法、X線光電子分光(ESCA)、電子線プローブマイクロアナリシス(EPMA)、二次イオン質量分析(SIMS)、オージェ電子分光(AES)、  
20 蛍光X線分析等は、良好な手段であるが、高価な器材を必要とし、更に測定技術も必要とするため簡便な方法とはいえない。更に紙、綿、織布、不織布、スポンジ、多孔質ビーズ等、多孔質材料表面が血液と接触した時に有効に働く陰性荷電を測定する意味で必ずしも最適な方法とはいえない。そこで、本発明に先立って、測定対象である材料の表面の陰性荷電を触媒としてアルコール等の有機溶剤中でヨウ素とヨウ化物イオンとを反応させて三ヨウ化物錯イオンを生成し、該三ヨウ化物錯イオン量を吸光度測定する事によって、多孔質濾過材表面の陰性荷電量の測定する方法を完成した。以下本測定法という。

【0008】以下、本測定法についてより詳細に説明する。表面の陰性荷電量を測定する材料を水又はアルコールなどの溶媒中でヨウ素及びヨウ化物塩を反応させ、生成されるヨウ化物錯イオンを、波長359nmでの吸光度を測定する。材料から溶出物が存在する場合は、測定への影響を除くためあらかじめ除去操作を施すことが、より正確に陰性荷電量を求めるために望ましい。別に表面にカルボキシル基等の陰性荷電が既知量固定された材質を用意し、同様の操作を行って検量線を作製する。この検量線より前記材料の表面の陰性荷電量を求めることができる。この他に波長290nmでの吸光度や、  
40 290nmと359nmとの両方の吸光度からも求めることもできる。本測定法でいうヨウ化物錯イオンを与える物質としては、全てのヨウ化物塩を用いることができるが、好ましい例を挙げると、ヨウ化カリウム、ヨウ化ナトリウム、ヨウ化マグネシウム、ヨウ化亜鉛、ヨウ化マンガン、ヨウ化鉄(I)、ヨウ化リチウム等アルコール性溶媒に容易に溶解するヨウ化物塩である。特に、ヨウ化カリウム、ヨウ化ナトリウム等のヨウ化物塩がアルコール性溶媒への溶解性、入手のしやすさ及び保存の容易さより良好に用いられる。又、ヨウ素は、ヨウ化物に含

まれる微量のヨウ素を用いてもよいし、それに更に、ヨウ素を添加しても良好な測定が実施できる。微量の陰性荷電量を測定する場合は、ヨウ化物塩に含まれる微量のヨウ素だけでも良好に測定できる。用いられるヨウ化物塩は、上記の塩に限定されるものではない。

【0009】本測定で言うアルコール性溶媒とは、メタノール、エタノール、n-プロパノール、イソプロピルアルコール、t-ブタノール等のアルコールに、水及び359nmに吸収を持たない有機溶媒を混合した液を指し、更に材料自体を溶解せずしかもヨウ化物塩を溶解する溶媒を指す。上記のアルコール性溶媒全てにおいて測定が可能であるが、アルコール性溶媒には、200nmから500nmの間に可視及び紫外領域に吸収のない溶媒が使用できる。更にこの波長を限定するならば、250nmから450nmの間の波長、より限定すれば300nmから400nmの間の波長に吸収を持たないことが有用である。好ましくは、水の混合比が50重量%以下のアルコールが挙げられ、より好ましくは、100%アルコールが良好である。特に、ポリエステル等の不織布の表面荷電量を測定する場合には、溶媒と材料との親和性の良さ及びヨウ化物塩の溶解性より100%メタノールが最も良好なアルコール性溶媒として挙げられる。

【0010】本測定法においてヨウ素及びヨウ化物イオンのアルコール性溶媒中での濃度は、特に制限はないが、そのアルコール性溶媒に反応温度において溶解する濃度である必要がある。359nm付近の吸収とは、アルコール性溶媒中で表面陰性荷電が触媒となってヨウ素とヨウ化物イオンから生成する三ヨウ化物錯イオンの水又はアルコール性溶媒中での吸収を示している。従って、三ヨウ化物錯イオンによる359nm付近の吸収は、表面陰性荷電量が大きいほど比例して大きくなる。一定時間における吸光度の増加量が三ヨウ化物錯イオンの増加量に相当し、これが被測定物質の表面陰性荷電量として求められる。これにより表面陰性荷電量が数 $\mu\text{eq/g}$ 量存在すれば測定が可能で、微量の陰性荷電量についても測定が可能となる。さらに生成した三ヨウ化物錯イオン量を紫外吸光度に置き換えて測定するために明確な数値化が行え、又表面陰性荷電量を三ヨウ化物錯イオン増量に置き換えることで、陰性荷電量の差が増幅され、大きな吸光度の差として現れるために、高精度の測定が可能となる。

【0011】本測定法において濾過材料からの抽出物が存在する場合、抽出物自身が測定波長で吸収を有する、或いは陰性荷電を有することがあるため、本測定法に影響することがある。そのため、あらかじめ十分に除去する、或いは抽出物の非溶媒を使用することが好ましい。しかし、本発明者等の研究によると、特にポリエステル系材料からのオリゴマーの抽出では、測定条件のアルコール性溶液と測定される材料の重量比において、測定に用いられる温度で、測定の為の反応時間における溶出物

の紫外吸収領域での吸光度が0.1以下であれば測定結果への影響は少なく、更には、上記吸光度が0.01以下、最も好ましくは0.001以下であれば好適に測定が実施できる。本測定法では、容器状、板状、フィルム、シート、薄膜、平膜、中空系等の膜、ゲル等の無定型個体、ビーズ、裁断片、粒状、粉末状、多孔系、綿、織布、不織布、メッシュ、紙状などの公知の材料のいずれの形態の物質でも測定が可能であるが、特に比表面積が $5\text{ m}^2/\text{g}$ 以下の低表面積の材料において好適である。具体的例をあげると、メルトブロー法やフラッシュ紡糸法、抄造法等によって得られる不織布に対しては、特に好適な測定法である。尚、ここで不織布とは、編織によらずに繊維或いは糸の集合体が、化学的、熱的、または機械的に結合された布状のものをいう。繊維と繊維が互いに接触することにより一定の形状を保っている場合、機械的に結合されたことに含める。本測定法は特にポリエステル系の不織布に対して、好適な測定法である。なお、上記の測定法にしたがって、血液濾過材の表面陰性荷電量が実質的に0と測定された場合は、該血液濾過材表面には全く陰性（官能）基が存在しない場合と、陰性（官能）基を有しながら、共存する陽性官能基により電気的に相殺されている場合とがあり得る。そこで、次に陰性（官能）基の存在の有無を、以下の方法により確認する。

#### 【0012】陽性荷電過多存在下での陰性荷電簡便化測定法

陰性荷電と陽性荷電が共存しており、且つ陽性荷電が高い、濾過材料の陰性荷電の有無を簡便に測定する方法として本方法を用いる。陰性を示す官能基に対し、陽性荷電を有する色素を吸着させ、その吸着量より、その陰性荷電量を求める。その例を以下に示す。濾過材料を密栓のできるガラス製容器に0.01g秤量する。これに0.013重量%のサフラニンO水溶液10ml入れ、密栓後、30℃、48時間振とうする。48時間経過後、上清のみを取りだし、515nmの波長で吸光度測定を行う。更に、濾過材料を加えずに同様の操作を行い、未吸着時の吸光度を測定する。予め、本陰性荷電測定法によって、陰性荷電量の解った材料で、検量線を作製し、濾過材料に吸着したサフラニンOの量より、陰性荷電の有無と、その陰性荷電量を求める。

#### 【0013】キニンの生成性

血液の抗凝固剤にはヘパリンなどの抗トロンビン活性を示すことによるもの、クエン酸及びその塩、エチレンジアミン四酢酸及びその塩等の二価金属イオンと錯体を形成することによって抗凝固活性を示すもの、メシル酸ナファモスタット（Nafamostat Mesilate）等蛋白分解酵素阻害剤などが用いられている。本発明者等の研究ではメシル酸ナファモスタットはカリクレイン活性を阻害し、キニン生成に抑制的に作用するのに対して、二価金属イオンと錯体を形成することによ

て抗凝固活性を示すものではキニン分解酵素（キナーゼ）活性を阻害しキニン分解に抑制的に作用する。この為、抗凝固剤はいずれであっても使用できるが、抗凝固剤に二価金属イオンと錯体を形成することによって抗凝固活性を示すものを使用する時、表面の総荷電量が $-30\mu\text{eq/g}$ 以下、特に $-50\mu\text{eq/g}$ 以下と高い濾過材料でキニン上昇がより激しく問題であった。更にカプトプリル（Captopril）、エナラプリル（Enalapril）等のアンジオテンシン転換酵素阻害剤が血漿中に存在するとき、キニンの分解がやはり阻害され、やはりキニン上昇が多かった。よって、濾過材料のキニン生成性の評価には、クエン酸等の抗凝固剤が好ましく、実用的には、メシル酸ナファモスタットがキニン上昇性を抑制できるため安全上好ましい。

【0014】表面の総荷電量が $-30\mu\text{eq/g}$ 以下、特に $-50\mu\text{eq/g}$ 以下と高い血液濾過材料は、フラスコ中でクエン酸及びその塩等を0.1~20重量%程度含んだ血液と接触させるインビトロ血液試験によると、血漿中のキニン濃度が上昇し、 $4000\text{ pg/ml}$ 以上の高い濃度となることが分かった。更に実用時にも該血液濾過材料では血漿中のキニン濃度を $4000\text{ pg/ml}$ 以上に上昇させ、且つキニン濃度 $4000\text{ pg/ml}$ 以上の血漿が体内に入った時、顔面紅潮、血圧低下等のアナフィラキシー症状を呈することが分かった。よってキニン濃度を $4000\text{ pg/ml}$ 以上に上昇させない濾過材料が副作用をおこさない安全な血液或いは血液製剤を得るために必要である。本発明者等が濾過材料によるキニン上昇性と濾過材料表面の陰性荷電量との関係に注目し、研究したところ両者に明らかな正の相関関係があり、濾過材料表面の陰性荷電量を下げることによって血液濾過材料によるキニン上昇を防止できることを見いだした。そこで表面の陰性荷電量の少ない血液濾過材料を得るべく鋭意研究した結果、表面の陰性荷電絶対量が $30\mu\text{eq/g}$ 以下の血液濾過材料の製造に成功し、本発明を成すにいたった。即ち本発明は、表面の陰性荷電絶対量が $30\mu\text{eq/g}$ 以下の、血液キニン上昇性の低い血液濾過材料を提供することにある。本発明者等の研究の結果、血液濾過材料の表面の陰性荷電絶対量が $30\mu\text{eq/g}$ 以下の時、血漿中の血液凝固第XII因子の活性化は少なく、それ故キニン濃度の上昇は軽微で、インビトロ血液試験にて $4000\text{ pg/ml}$ 以上に上昇しないことが分かった。

【0015】表面陰性荷電量は少なければ少ない程好ましく、濾過材料の表面陰性荷電絶対量のより好ましい範囲は、 $25\mu\text{eq/g}$ 以下である。更に好ましくは $20\mu\text{eq/g}$ 以下である。血液濾過材料の表面の陰性荷電量は少ないほど好ましく、特に下限は無い。が、使用時の血液の濡れ性と血液適合性の点、更に、血漿蛋白質の非特異吸着性が低い点より、表面に陰性荷電を有することが好ましく、 $0.01\mu\text{eq/g}$ よりは多いことが好

ましい。更に好ましくは $0.1 \mu\text{eq/g}$ 以上、最も好ましくは $1 \mu\text{eq/g}$ 以上である。物質表面の荷電量は表面積あたりの荷電密度で現されるのが一般的ではあるが、本発明者等の研究では荷電密度が低くても表面積が大きければそれだけキニンが生成される機会は多く、よって単に表面積あたりの荷電密度で表現することは好ましくなかった。

#### 【0016】キニンと表面の陰性荷電量との関係

材料と血液又は血漿との接触により、血液凝固因子とカリクレインとが活性化して高分子量キノーゲンが分解され、血液キニンが生成されて血液中の濃度が上昇する。この時の血液キニン濃度の上昇の大きさを以下キニンの生成性と称し、濃度の上昇が大きい時キニンの生成性が高いとした。本発明者等の研究によると、材料の表面の陰性荷電量が多いとキニンの生成性は高く、特に陰性荷電量が $100 \mu\text{eq/g}$ を越えると、非常に大きなキニン生成性を示し、一方、陰性荷電量が少ないとキニン生成性は低い事がわかった。即ち、材料の表面の陰性荷電量とキニンの生成性とは正の相関を示すのである。この時、材料の表面の陰性荷電絶対量が $30 \mu\text{eq/g}$ より多くなるとキニンの生成量は臨床上問題となるレベルに達する場合があるが、 $30 \mu\text{eq/g}$ 以下であると、キニンの生成性は非常に低く、特に好ましかった。

【0017】本発明において表面とは血液又は血漿と接触出来る濾過材料の全表面を指すものであり、血液との接触が不可能な濾過材料内部は含まない。表面が何らかの表面処理されていても、その処理も含めて血液が接触できる全表面を示す。表面の荷電とは該表面及び表面近傍に存在する荷電であって、血液中の成分に対して静電的作用を及ぼし得るものをいう。あえて定量的に示すならば、表面及び表面より $10 \text{\AA}$ の深さまでの間に存在する荷電である。

#### 【0018】陰性荷電の定義

ここでいう陰性荷電とは、カルボキシル基、リン酸基、亜リン酸基、スルホン酸基、硫酸エステル基、亜硫酸基、次亜硫酸基、スルフィド基、フェノール基、ヒドロキシル基など中性のpHで陰性を示す酸性官能基をいう。上記の酸性官能基はほんの1例を示したのみで、これに限定されるものではない。好ましくは血液及び血漿中で陰性を示す上記官能基である。この中でカルボキシル基とスルホン酸基及び硫酸エステル基が荷電強度が高く、実用上特に重要である。この陰性荷電には、血液濾過材料自身が本来持つ陰性官能基、血液濾過材料の製造過程で例えば熱、酸化物や酸、アルカリ溶液などの薬品、放射線などによって加水分解で生じたもの、陰性荷電を有する化合物を共有結合、グラフト、物理吸着、イオン結合、包埋などの方法で導入されたものを含む。更に、放射線グラフトやプラズマグラフトによって陰性基を有するモノマーをグラフト重合した結果導入されたもの、或いは陰性基を有しないモノマーをグラフト重合した時に

モノマー或いは担体に新たに生成した陰性荷電が含まれる。従って、結果的に実用時に濾過材料表面に存在する全ての陰性荷電が含まれる。

#### 【0019】共存する官能基

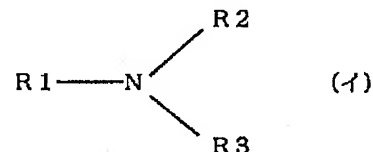
更に、上記陰性基と共に陽性基や非イオン性基が共存してもよい。非イオン性基の例を挙げると、非イオン性基で特に親水性の向上を目的とした水酸基、ポリエチレングリコール鎖、ジメチルアミド基、ジエチルアミド基、ジイソプロピルアミド基等のアミド基、ポリエチレングリコレート鎖、ポリブチレングリコレート鎖等の芳香族ポリエステル鎖及び脂肪族ポリエステル鎖等のポリエステル鎖、メチレングリコール鎖、プロピレングリコール鎖等のポリエーテル鎖、ポリカーボネート鎖、等の非イオン性親水性基、又は、疎水性付与を目的としたアルキル鎖、フッ化アルキル鎖、アリル鎖等の非イオン性基全般を含む。以上の何れの官能基が共存しても良いが、好ましくは、該非イオン性親水性基を有する場合であり、特に白血球除去フィルターに好適な効果が得られる。

#### 【0020】陽性基の定義

本発明でいう陽性基とは、アミン類、及びアミン誘導体等が含まれ、3級及び4級アミノ基があげられ、いずれであつても良い。好ましい例としてはpKbが2.0以上、より好ましくはpKbが3.0以上のものがあげられる。更に血液は抗凝固剤として通常ヘパリンが用いられることがあるため、ヘパリンの吸着が少ないことがより望ましい。この点より、より好ましい例を示すと次式(イ)で現されるものである。

#### 【0021】

#### 【化1】



【0022】置換基であるR1、R2、R3に特に制限は無く、任意の置換基を与えることができるが、どこかの置換基(例えばR1)が濾過材料上の何れかの主鎖と共有結合によって接続されているものである。例えば水素、メチル基、エチル基、プロピル基、フェニル基、ベンジル基などの炭化水素置換基であっても良いし、メチロール、エチロールなどの異核種の原子を含んだ置換基でも良い。さらにはR1とR2(又はR3)とで主鎖を構成する構造であっても良い。R2、R3は2つ以上で環状となっているものでもよく、例えばピリジン、イミダゾール、ピペリジン、ピロール、ピリミジンなどがこれに相当する。

【0023】陽性官能基の一例を単量体名で例示する



と、アリルアミン、ジアリルアミン、N, N-ジメチルアリルアミン、N, N-ジアリルピペラジン、N, N-ジアリルアニリン、N, N-ジアリルメラミン、アミノスチレン、N, N-ジメチルアミノスチレン、N, N-ジエチルアミノスチレン、ビニルベンジルアミン、ビニルフェネチルアミン、N, N-ジメチルビニルフェネチルアミン、N, N-ジエチルビニルフェネチルアミン、N-プロピルビニルフェネチルアミン、ビニルピリジン、2-メチル-5-ビニルピリジン、2-エチル-5-ビニルピリジン、2-ビニルキノリン、2-ビニルイミダゾール、4-ビニルイミダゾール、ビニルピラソリン、ビニルピラジン、4-ビニルピリミジン、ビニルアミン、ビニルカルバゾール、エチレンイミン、N-フェニルエチレンイミン、N, N-ジエチル-N-ビニルフェネチルアミン、ジエチルアミノエチルメタクリレート、ジメチルアミノエチルメタクリレート、ジエチルアミノエチルスチレンなどのモノマーや、これらのいずれかを重合単位とするオリゴマーやポリマーがあげられる。またこれらを4級化したアンモニウム基であっても良い。これらの中で、特にR<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>は水素(H)又は炭素数1以上12以下のアルキル鎖であることが好ましい。更にはR<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>は水素(H)又は炭素数1以上6以下のアルキル鎖であることがより好ましい。具体例を示すとジエチルアミノエチルスチレン、N, N-ジエチル-N-ビニルフェネチルアミン、ジエチルアミノエチルメタクリレート、ジメチルアミノエチルメタクリレート、ジエチルアミノエチルアクリレート、ジメチルアミノエチルアクリレートがより好ましい例としてあげられる。

【0024】またこれらの重合単位と他の重合性単量体、例えばヒドロキシステレン、ヒドロキシメチルスチレン、ビニルアルコール、2-ヒドロキシエチルアクリレート、2-ヒドロキシエチルメタクリレート、セグメント化ポリウレタン、セグメント化ポリエステル等との共重合体であったも良い。特に重合体中にヒドロキシル基を有していることが血液適合性向上の点で好ましい。ヒドロキシル基の重合体中における結合様式に特に制限はない。特に式(I)で現される陽性官能基を持つ重合体単位を1から50重量%含む、ヒドロキシル基を有する重合体単位との共重合体であることが好ましい。

【0025】本発明にいう血液濾過材表面の総荷電量は、表面に陰性基のみ、又は陰性基と非イオン性基とを有し、いずれも陽性基を有さない場合は、陰性基の量をいう。又、表面に陰性と陽性が共存する場合、血液濾過材使用時のpH5から9付近の血液において共存する陽性荷電と陰性荷電とを相殺した結果残った荷電量をいう。

【0026】本発明において血液濾過材の総荷電量を-30 $\mu$ eq/g以上にする手段には次の方法がある。

(1) 原料チップの含水率を下げる、溶融時の温度や水

分率を下げるなどの方法によって、濾過材の製造過程での加水分解、熱分解を防止する。

(2) 放射線、電子線、プラズマ照射等の際に酸素の共存量を下げる事で過酸化化物(パーオキサイド)の生成を防止する。

(3) 非陰性の化合物を陰性基に共有結合するなどして、化学的に陰性基をブロックする。

(4) 非陰性の化合物をコーティング等の物理的方法によって陰性基を被覆する。

(5) 化学的或いは物理的に陽性基を導入して静電的に中和する方法。いずれの方法も利用できる。より好ましい方法は濾過材の種類や用途によって異なるため一概に断定できないが、一般には親水性の中性或いは陽性基を有する化合物、重合体の被覆層を形成する方法が最も容易で、実用上好ましい。

【0027】本発明でいうところのフィルターは、前述のとおり、濾過材のうちで、輸血分野での白血球除去用、自己免疫疾患での白血球除去治療用、心臓外科における術後灌流血液中からの白血球除去、術野血液回収時の骨破片などのゴミ取り、体外循環などでの吸着材破片の体内流入防止用等それぞれの用途によって異なるが、上記で用いる総称として用いる。特に、白血球除去フィルターに関しては、おもに白血球を粘着、濾過、除去するメインフィルターと、ゲルやマイクロアグリゲート等を除去するために用いるプレフィルターとに大別される。

【0028】濾過材の至適な陰性荷電

本発明者等は、各種の濾過材料について表面陰性荷電の測定を行ったところ、これまでの濾過材料は、保存血小板製剤中の白血球の除去に用いられる陽性荷電導入型の白血球除去器Sepacell PL(旭メディカル社製)を除き、いずれも絶対量が50 $\mu$ eq/g以上の多くの陰性荷電量を有するものであった。濾過材料表面は、陰性荷電量が例えば50 $\mu$ eq/g以上と多いとキニンが大量に生成され問題であり、このキニン生成の点では陰性荷電が少ないほど好ましく、さらには表面に陽性荷電を有する場合もキニン生成の問題は無かった。しかし一方でSepacell PLなど表面に陽性荷電を有する濾過材料は、例えば血液灌流時に濾過材料を内蔵した容器やチューブ等で生じた活性化補体をまったく吸着せず、直接体内に活性化補体が進入し、問題となる可能性があること、体外循環時に抗凝固剤として用いられるヘパリンを吸着し、血液凝固をおこし易いこと、血液中の例えば血小板由来増殖因子、 $\alpha$ 1-酸性糖タンパク質など微量な有用タンパク質が多く存在する酸性のタンパク質を吸着する可能性があることなどの問題点があり、表面に陽性荷電を多量に有することは必ずしも好ましくなかった。又表面に陰性を有するものは、その酸性基の親水性が高く、血液の濡れ性の点でも優れており特に好ましかった。

10

20

30

40

50

【0029】本発明の濾過材の材質としては、ポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート及びポリオキシエチレンテレフタレート等のポリエステル、ポリアクリロニトリル、ナイロン6、及びナイロン6、6等のポリアミド、芳香族ポリアミド、ポリスチレン及びその誘導体、ポリエチレン、ポリプロピレン、及びポリブテン等のポリオレフィン、メチルメタクリレート、及びエチルメタクリレート等のメタクリル酸エステル誘導体を重合して得られる高分子化合物、メチルアクリレート、及びエチルアクリレート等のアクリル酸エステル誘導体を重合して得られる高分子化合物、ポリトリフルオロクロロエチレン、ポリビニルマール、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリビニルアセタール、ポリカーボネイト等の合成高分子化合物で、上記高分子化合物の単量体の単独重合体、共重合体、ブロック重合体及び上記高分子化合物の、ブレンド及びアロイ化したものを含むものや、セルロース及び／またはその誘導体等の再生繊維及び上記に示した合成高分子化合物とのブレンド、アロイ化したものを含むものなどが挙げられる。上記の中で、特にポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、ポリオキシエチレンテレフタレートなどのポリエステル系合成高分子材料が、不織布への成形性や、得られる不織布の繊維径、繊維によって形成される細孔状態等が制御し易く、白血球等の除去対象物質に合わせた最適な血液濾過材の製造が可能で好ましい。このポリエステル系合成高分子材料は、血液の濡れ性の点でも好ましい。

【0030】本発明の濾過材の製造には、多孔質状にあっては、公知の常圧発泡法、加圧発泡法、押出発泡法、射出発泡法等の発泡分解法、溶剤気散法、気体混入法、化学反応法、溶出法、焼結法等が採用でき、熱プレス圧縮、適当な液体による膨潤等の2次加工を施し、本発明で規定する孔径分布になるように制御することが好ましい。また、繊維状の濾過材の製造法としてはメルトブロー法やフラッシュ紡糸等の方法が挙げられ、更に製造された繊維にプレス圧縮や熱収縮、適当な液体による処理等の2次加工を施し、本発明で規定する孔径分布になるように制御することが好ましい。

#### 【0031】濾過材の表面修飾法

濾過材に、種々の低分子量、高分子量の化合物を共有結合、イオン結合、放射線やプラズマによるグラフト法、物理吸着、包埋あるいは濾過材料表面への沈澱不溶化等あらゆる公知の方法を用いて固定して用いることもできる。例えば、高分子化合物やその単量体を放射線或いはプラズマ等を用いてグラフト重合したり、共有結合するなどの公知の方法により表面改質（特開平1-249063、特開平3-502094）を施した濾過材料が知られている。表面改質に用いられる単量体及び高分子化合物の例として、メタクリル酸、アクリル酸、2-メタクリロイルオキシエチルコハク酸、モノ（2-アクリロ

イルオキシエチル）アシッドフォスフェート、2-スルホエチルメタクリレート、2-メタクリロイルオキシエチルフタル酸、等のアクリル酸もしくはメタクリル酸誘導体や、p-スチレンスルホン酸、p-ビニル安息香酸等のスチレン誘導体、ビニルフェノール等のフェノール誘導体、アリルスルホン酸ナトリウム等のアリル化合物等の各種ビニルモノマー、アセチレン誘導体、トリオキサン誘導体等の陰性基を有する単量体を重合して得られる高分子化合物、また上記の単量体と重合性官能基、好ましくはビニル基または、アセチレン基を有する、例えば、2-ヒドロキシエチルメタクリレート、2-ヒドロキシエチルアクリレート、1、2-ジヒドロキシエチルメタクリレート、メトキシトリエチレングリコールメタクリレート、メトキシノナエチレングリコールメタクリレート、メチルメタクリレート、エチルメタクリレート、メチルアクリレート、エチルアクリレート等のアクリル酸エステル及びメタクリル酸エステル誘導体、スチレン及びその誘導体等の中性の単量体、N、N-ジエチルアミノエチルメタクリレート、N、N-ジメチルアミノエチルメタクリレート、N、N-ジエチルアミノエチルメアクリレート、N、N-ジメチルアミノエチルアクリレート等のカチオン性の単量体との共重合体、ブロック重合体として得られる高分子化合物或いはオリゴマー等の合成化合物があるが、特に、ビニルモノマーを重合して得られる高分子化合物が重合性が高く、入手も容易であるため好ましい。上記の表面修飾を行う濾過材料の中で、特にポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、ポリオキシエチレンテレフタレートなどのポリエステル系合成高分子材料が、グラフト及びコート等の表面修飾性に優れている点で特に好ましい。

【0032】濾過材の陰性荷電絶対量を $30\mu\text{eq/g}$ 以下にする手段

本発明における表面陰性荷電量を下げる手段の例を挙げると、表面陰性荷電絶対量を $30\mu\text{eq/g}$ 以下にする手段としてポリエステル不織布の場合、紡糸する際にメルトブロー前の原料チップの水分率を公知の真空乾燥機及びホッパードライヤー等乾燥機を用いて下げ、乾燥条件で紡糸すること、及び押し出し温度、ブロー温度を下げる事によって実施できる。他の表面陰性荷電絶対量を $30\mu\text{eq/g}$ 以下にする方法の例として、公知のジシクロヘキシルカルボジイミド等のカルボジイミドを用いて公知の第1及び第2アミン及びそれらアミノ基を有する化合物と反応する事によるアミド化や、ジアゾメタンを用いるメチルエステル化等のエステル化反応などがある。エステル化剤及びアミド化剤の例を挙げると、ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）、ジアゾメタン、硫酸ジアルキル、ハロゲン化アルキル等があるがこれに限定されるものではない。他に、真空下加熱脱水処理を行うことにより、自己水酸基とのエステル化反応、疎水面との接触による陰性基の包埋等の方法などで



ある。更に、公知の放射線及びプラズマ等を用いたグラフト法により、表面を改善することにより実施できる。また、公知の陰性荷電を有しない親水性ポリマーまたは含窒素陽性ポリマー等をコートすること等によって陰性官能基を有する表面を被覆する事で表面陰性荷電絶対量を $30\mu\text{eq/g}$ 以下にすることもできる。ポリエステル系合成高分子濾過材料は、製造工程で熱などによって加水分解されてカルボキシル基が生じる。発明者らの測定では現在利用されているポリエステル系合成構成高分子濾過材料からなる不織布は、いずれも表面の陰性荷電絶対量は $30\mu\text{eq/g}$ より多いものばかりであった。この例では、発明者等の研究では特に原料チップの水分率を下げることで、表面陰性荷電量を下げる上で最も好適な結果が得られた。即ち、原料チップの水分率が15ppm以下、より好ましくは10ppm以下とする時、表面の陰性荷電絶対量を $30\mu\text{eq/g}$ 以下とすることができた。

#### 【0033】濾過材の血液の濡れ性

濾過材料は表面の陰性荷電量が少なければ少ないほどキニン生成の点で好ましいが、一方で本発明者等の研究によると、表面の陰性荷電を下げるにしたがって表面の濡れ性が下がり、血漿タンパク質の非特異吸着が多くなる事、血小板の粘着が多くなること、使用開始時の湿潤化が容易でなくなることがわかった。濡れ性を臨界湿潤表面張力(CWST)で表現する時 $50\text{dyne/cm}$ 以上であることが好ましかった。特に $58\text{dyne/cm}$ 以上である時最も好ましかった。濡れ性は表面の陰性官能基の量のみによって決まるのではないが、通常利用される血液濾過材料、特に白血球除去の目的で利用される濾過材料、例えばポリエステル不織布等ではカルボキシル基の寄与が最も高く、よってCWSTを高めることによってカルボキシル基の量もまた増加する事がわかった。CWSTの上限は、高ければ高いほど濡れ性が上がるため好ましいが、一方でキニン生成が高まる事があるため、実際には $102\text{dyne/cm}$ 以下である事が好ましく、より好ましくは $90\text{dyne/cm}$ 以下であった。しかし、例えば中性の親水基を表面に保持させることにより、陰性官能基を $30\mu\text{eq/g}$ 以下に維持したまま、CWSTを上げる事が可能である。CWSTは、以下の方法によって測定できる。即ち、表面張力が順次 $2\sim4\text{dyne/cm}$ ずつ異なる一連の試薬用標準液を調整する。少なくとも2種の連続した表面張力を持つ標準液の少なくとも10滴を別個に濾過材料表面の典型的部分に乗せ10分間放置する。10分後観察し、10滴のうち9滴以上が濡れている場合は、当該表面張力の液で湿潤されたと判断する。また、10滴のうち8滴以下しか濡れなかった場合は、湿潤されなかったと判断する。滴下した連続した表面張力を持つ2種の標準液の内、一方が湿潤し他方が湿潤しないことが確認されるまで順次より高いか、より低い表面張力を持つ標準液を用

い試験を続ける。上記現象が確認されれば、この時用いた2種の標準液の表面張力の平均値を算出し、濾過材料のCWST値とする。

【0034】濾過材の接触角の定義、接触角の至適範囲  
液体を濾過材料表面と接触させ、液体と濾過材料表面とのなす角を接触角 $\theta$ とした時、濾過材料表面の親水性を接触角で表せる。即ち、本発明で、測定方法としては、表面張力 $100\text{dy/cm}$ の液体を用いて、濾過材料表面の液滴を落とした時、液滴と周りの気体との濾過材料との接点における接線と濾過材料平面との成す角を接触角 $\theta$ とする時、この $\theta$ が $120$ 度以下のとき、白血球除去時に湿潤が起こりやすい。更に、その親水性が高いと、必要な血漿タンパク質が吸着するのを防ぐことができる事より、好ましくは、折衝角が $90$ 度以下で、より好ましくは、 $70$ 度以下の時、良好な白血球除去フィルターとなる。

#### 【0035】濾過材のゼータ電位

ゼータ電位は、流動電位測定装置(島津製作所製、ZP-10B)でKCI濃度 $10^{-3}\text{mol/l}$ で測定できる。ゼータ電位もある意味において表面荷電と親水性をみる基準となり、その親水性によって値が左右される。濾過材において、そのゼータ電位が $-25\text{mV}$ 以上の時、血液キニンの上昇のない安全な濾過材となる。血液キニンの上昇は陰性基によるゼータ電位がより高い時に低くなることより、好ましくは、 $-20\text{mV}$ 以上で、より好ましくは、 $-15\text{mV}$ 以上 $0\text{mV}$ 以下のときより良好な濾過材となる。

#### 【0036】濾過材の平均孔径、全表面積の定義

本発明における平均孔径とは、濾過材を血液の流れ方向に対して垂直方向に切断し、断面全体に分散している細孔の各々について直径を測定して直径と細孔の数との関係を調べたときに、最も数の多い細孔の、円に換算した直径を表すものである。即ち、濾過材の任意の切断面に分散する細孔はいろいろな形で、その直径もさまざまであるが、個々の細孔をその細孔の断面積と同じ面積の円に換算し、その直径を横軸にとり、縦軸に細孔の数をとってグラフを描くと一般に正規分布に近い曲線となる。そして、その曲線のピークに当たる直径が本発明でいう平均孔径である。即ち、平均孔径とは、任意の切断面各々につきその切断面上に分散する細孔の平均直径のことであり、どの切断面上の平均孔径も $1\sim300\mu\text{m}$ の範囲内にあることが好ましい。また、血液上流側及び下流側とは、濾過材最表面から濾過材の厚み方向に対して $0.5\text{mm}$ 以下の部分をいい、血液上流側及び下流側の平均孔径の測定は走査電子顕微鏡でフィルターの表面を撮影し、目視により撮影面上に分散している細孔の直径をランダムに1000個以上測定して求める。また、濾過材の平均孔径を求める際に、細孔の直径を測定することが困難な場合には、濾過材表面から濾過材の厚み方向に対して $0.5\text{mm}$ 以下の部分で血液の流れ方向に対し

できるだけ垂直に切断したある厚みを持った検体を水銀圧入法（島津製作所、ポアサイザ9320）で測定し、縦軸に細孔の数を取り、横軸に孔径をとってグラフを描き、そのピークにあたる点を平均孔径とすることもできる。また、本発明における濾過材の表面積は、水銀圧入法で測定した比表面積（ $\text{m}^2/\text{g}$ ）に濾過材のかさ密度（ $\text{g}/\text{cm}^3$  または  $\text{g}/\text{ml}$ ）を乗じた値であり、実際に白血球選択除去フィルター装置内に濾過材を充填したときと同等またはそれに近い状態で測定されるものである。なお、水銀圧入法による測定は、1～2650 psi の圧力範囲で測定した値である。

#### 【0037】濾過材の平均孔径

以下、本発明の実施態様に基づき詳細に説明する。平均孔径の好ましい範囲は、 $1\mu\text{m}$ ～ $300\mu\text{m}$ であり、白血球除去性能より考慮すると、より好ましい範囲は1～ $150\mu\text{m}$ である。本発明の細孔が、厚み方向に変化する場合、白血球選択除去フィルターにおいて、血液上流側の平均孔径は $10\mu\text{m}$ ～ $300\mu\text{m}$ 、より好ましくは $10\sim150\mu\text{m}$ 、最も好ましくは $10\mu\text{m}$ ～ $100\mu\text{m}$ であることが望ましい。即ち平均孔径が $10\mu\text{m}$ 未満であると白血球除去操作時において、濾過材表面で血球目詰まりを引き起こし、圧力損失が増大するため不適であり、一方、平均孔径が $300\mu\text{m}$ を超えるものと、血球と濾過材表面との接触頻度が低下するため、白血球の血液上流側濾過材表面での除去率が低下し、濾過材内部での血球目詰まりを引き起こすためである。また、血液下流側の平均孔径は、上流側と同等もしくはより小さいことが望ましく、好ましい範囲を示すと1～ $30\mu\text{m}$ である。平均孔径が $1\mu\text{m}$ 未満であると孔路が狭すぎるため圧力損失が増大し、一方 $30\mu\text{m}$ を超える平均孔径であると、白血球の除去量が低下してしまうため、より好ましくは2～ $20\mu\text{m}$ 、最も好ましくは3～ $15\mu\text{m}$ である。

#### 【0038】メインフィルターの平均孔径と表面積の最適値

また、本発明の血液下流側の濾過材、即ちメインフィルターの全表面積は $0.20\sim5.70\text{m}^2/\text{ml}$ 以上であることが好ましく、より好ましくは $0.50\text{m}^2/\text{ml}$ 以上、最も好ましくは $0.70\text{m}^2/\text{ml}$ 以上であり、上限は特にない。しかし、全表面積が非常に大きいと、血漿蛋白等の非特異吸着が増加する可能性があり、好ましくは $10\text{m}^2/\text{ml}$ 以下、より好ましくは $5.70\text{m}^2/\text{ml}$ 以下である。このうち1～ $10\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は血液下流側の多孔質体の全表面積の50%以上、より好ましくは55%以上、最も好ましくは60%以上であることが望ましく、1～ $30\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積は血液下流側の多孔質体の全表面積の60%以上、より好ましくは65%以上、最も好ましくは70%以上であることが望ましく、 $1\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積は38%以下、より好ましくは30%以下、最も

好ましくは28%以下であることが望ましい。血液下流側のメインフィルターの全表面積が $0.35\text{m}^2/\text{ml}$ 未満であると白血球が粘着する表面積が少ないため、白血球漏出が起こり、 $5.70\text{m}^2/\text{ml}$ を超えると血液処理に要する時間が長くなったり、白血球のみならず赤血球や血小板も除去されやすくなり、目詰まりによる圧力損失の増加が起こるため不適である。また、血液下流側のメインフィルターの1～ $10\mu\text{m}$ 及び1～ $30\mu\text{m}$ の細孔部分の表面積が血液下流側のメインフィルターの全表面積の50%未満、60%未満であると、リンパ球漏出または目詰まりを誘発するため不適である。また、 $1\mu\text{m}$ 未満の細孔部分は血球が通過し難い細孔であるため、 $1\mu\text{m}$ 未満の細孔部分の表面積が38%を超えると赤血球や血小板の回収量が低下するため不適である。また、本発明の血液上流側の平均孔径は血液下流側の平均孔径の2～100倍、より好ましくは3～50倍、最も好ましくは3～25倍であることが望ましい。即ち、血液上流側と下流側の平均孔径比が2倍未満であると白血球による目詰まりが生ずる、または白血球の捕捉量が低下し、一方平均孔径比が100倍を超えると、血液下流側での白血球の目詰まりが生じ、圧力損失が増大するため不適である。

#### 【0039】濾過材の全細孔容積

本発明における細孔容積とは、濾過材料の体積当たりの細孔の体積の割合を示し、上記平均細孔と同様に、濾過材表面から濾過材の厚み方向に対して $0.5\text{mm}$ 以下の部分で血液の流れ方向に対してできるだけ垂直に切断したある厚みを持った検体を水銀圧入法（島津製作所、ポアサイザ9320）で測定し、縦軸に細孔の数を取り、横軸に孔径をとってグラフを描き、細孔数とその孔径より求めた値である。本発明の白血球除去フィルターの全細孔容積は、ある程度の機械的な強度をもたせるために、上限は $0.95\text{ml}/\text{ml}$ 以下であることが、好ましく、更に白血球除去性能の観点からいえば、好ましい孔径の細孔が多く存在し、その接触面積がより大きいことが有効であることより、下限は $0.4\text{ml}/\text{ml}$ 以上が良好で、好ましくは $0.45\text{ml}/\text{ml}$ 以上、更に好ましくは $0.50\text{ml}/\text{ml}$ 以上である。

#### 【0040】濾過材の孔径分布

高い白血球除去率を有する白血球除去フィルターを開発すべく検討を行ったところ、上記特定範囲の平均孔径及び全孔容積を有し、且つ孔径1～ $100\mu\text{m}$ の孔部分の容積が全孔容積の75%以上である必要があり、好ましくは、孔径1～ $100\mu\text{m}$ の孔部分の容積が全孔容積の85%以上、更に、血球による目詰まりが少なく、白血球残存率が $10^{-4}$ 以下と高い白血球除去能を有する為には、上記特定範囲の平均孔径及び全孔容積を有し、且つ孔径1～ $100\mu\text{m}$ の孔部分の容積が全孔容積の90%以上であることが良好な結果を導くことがわかった。特に、下流側に用いるメインフィルターにおいては、孔径

1~30 $\mu$ mの孔部分の容積が全孔容積の75%以上である必要があり、好ましくは、孔径1~30 $\mu$ mの孔部分の容積が全孔容積の85%以上、更に、血球による目詰まりが少なく、白血球残存率が10<sup>-4</sup>以下と高い白血球除去能を有する為には、上記特定範囲の平均孔径及び全細孔容積を有し、且つ孔径1~30 $\mu$ mの孔部分の容積が全孔容積の90%以上であることが良好な結果を導くことがわかった。

#### 【0041】濾過材の比表面積

比表面積は、機械的強度及び白血球除去性能を加味し、0.5~15m<sup>2</sup>/gである時良好で、好ましくは、1~15m<sup>2</sup>/g、更に好ましくは、2~15m<sup>2</sup>/gの時十分な白血球除去性能となる。

【0042】濾過材の平均繊維直径、繊維直径変動係数不織布などの、繊維状の濾過材を用いる場合、繊維径が孔径及び細孔分布に寄与する為、その有効な平均繊維直径を示すことも重要である。本発明の平均繊維直径の測定は走査型電子顕微鏡で繊維状の濾過材の表面を撮影し、目視により撮影面上に分散している糸の直径をランダムに100個以上測定して求める。機械的強度及び白血球除去性能において有効なメインフィルターの繊維直径は0.3 $\mu$ m以上10 $\mu$ m以下で、糸径は細いほど白血球除去性能は向上することより、好ましくは0.3 $\mu$ m以上5 $\mu$ m以下、更に好ましくは0.3 $\mu$ m以上3 $\mu$ m以下である。更に、平均繊維直径からの繊維直径の変動の分布は、狭い方が好ましく、上下変動が20~60%以内である必要がある。好ましくは上下変動が20~50%以内で、更に好ましくは、20~45%以内のとき、均一な濾過材を与える。

#### 【0043】ブラジキニン濃度の測定方法

濾過材料のブラジキニン濃度を測定する方法として、血液の入口と出口を有する容器に濾過材料を充填して血液を流し、その出口側より血液をサンプリングし、ブラジキニン濃度を測定することもできるが、多量の血液を必要とし、一度にたくさんの濾過材料を評価することが困難なため、本発明では、以下に示す方法により評価を行った。以後、インビトロ血液試験と呼ぶ。表面積を一定に揃えた表面荷電量を測定した濾過材料をポリカーボネート製の50ml三角フラスコに入れ、これにACD-A液を11.1%添加してヘマトクリット値を40%以上60%以下とした血液、または、赤血球濃厚液にACD-A液11.1%（体積%）の生理食塩液を加えてヘマトクリットを調整した液を、37℃に加温した後、5ml加え37℃で5分間放置する。本発明者等の研究では、赤血球濃厚液より調整した液がブラジキニンの上昇性も高く、入手も比較的容易であり、特に好適であった。正確に5分後カリクレインの分解阻害剤及びキナーゼ阻害剤としてトラジオール、大豆トリプシンインヒビター、硫酸プロタミン、エチレンジアミン四酢酸-2-ナトリウム塩を添加後、4℃で冷却遠心して血漿成分

のみを取り出し冷凍後、公知のラジオイムノアッセイ法（PEG沈澱法）によりブラジキニン濃度を測定してブラジキニン量の定量とした。同時に陰性コントロールとして、濾過材料を入れないポリカーボネート製三角フラスコを同様のインビトロ血液試験を行い、比較の対象とした。なお、ガラス製三角フラスコを用いた陽性コントロールのインビトロ血液試験は、三角フラスコの材質がガラスになったことと及び濾過材料を入れないこと以外はインビトロ血液試験と同じ操作を行うものとする。

#### 【0044】白血球除去器

本発明の血液濾過材は血液の入口と出口を有する容器に充填して、白血球除去器として使用できる。容器へ充填する際、該濾過材のみを充填しても良く、更にプレフィルターと共に充填しても良い。

#### 【0045】白血球除去器の容器形状

容器形状としては、血液の入口と出口を有する容器であれば特に限定はないが、敢えて例を挙げると、濾過材を積層状に充填できる公知の容器や、円柱状、三角柱状、四角柱状、六角柱状、八角柱状、等の角柱状容器、更に、濾過材を円筒状に巻きこれを充填できる容器、又は、血液の流れが円筒の外周より入り内側へと流れ、最も内側に集まり血液流出口より出ることを特徴とする容器等が良好な形状となる。また、錘状等の断面積が入口から出口に向かうに従って、小さくなる形状を有する容器等が用いられる。この時の容器の断面積と長さの比（断面積/長さ、S/L）は、10cm以上500cm以下が良好なS/Lとなる。

#### 【0046】白血球除去器の充填密度

充填密度は、容器中に本発明の濾過材を充填した時の一定体積当たりの重さをいい、該容器に該濾過材を充填密度0.05以上0.5g/cm<sup>3</sup>以下充填して、白血球除去器とする事が望ましい。更に、目詰まりを防ぎ、圧損の上昇を防ぎ流れをスムーズにする為に、好ましい充填密度は、0.1以上0.4g/cm<sup>3</sup>以下で、更に好ましい充填密度は0.1以上0.3g/cm<sup>3</sup>以下である。

#### 【0047】白血球除去器の断面積、厚み

該白血球除去器の好ましい断面積は何れの大きさでも良いが、その製造上の容易さ及び血液処理量より0.5cm<sup>2</sup>以上300cm<sup>2</sup>以下が好ましく、小型化及び操作性の観点から好ましくは250cm<sup>2</sup>以下、更に好ましくは、200cm<sup>2</sup>以下が好ましい。又、濾過材全体の厚みは、その形状に依存するが、実用的な範囲として濾過材全体の厚みが0.1mm以上500mm以下が好ましい。プライミング性から考慮すると好ましくは0.1mm以上450mm以下が好ましく、更に好ましくは0.1mm以上400mm以下が実用的である。

#### 【0048】白血球除去器のカスケード

又、本発明の白血球除去器は1~100 $\mu$ mの平均孔径を有する、白血球除去用濾過材を血液の入口と出口を有

10

20

30

40

50

する容器内に全部又は一部充填した白血球除去器である。血液の入口から出口に向かって濾過材の平均孔径が実用的に連続的又は段階的に減少し、且つ血液最下流側の濾過材の全表面積は $0.35 \sim 5.70 \text{ m}^2 / \text{m}^1$ であり、このうち $1 \sim 10 \mu\text{m}$ 及び $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の孔部分の表面積がそれぞれ50%以上、60%以上である白血球選択除去器とする事もできる。又、本発明の白血球除去器は、血液最下流側の濾過材の $1 \mu\text{m}$ 未満の孔部分の表面積が38%以下であることが好ましい。又、本発明の白血球選択除去器は、白血球除去用として血液上流側の平均孔径が $3 \sim 100 \mu\text{m}$ 、血液下流側の平均孔径が $1 \sim 30 \mu\text{m}$ であって、しかも血液上流側の濾過材の平均孔径が血液下流側のその平均孔径の $2 \sim 100$ 倍であるものを充填したものであることが好ましい。本発明における平均孔径の連続的又は段階的減少とは、濾過材1枚を血液の流れ方向に切断した時、血液の上流側から下流側に向かって、濾過材の孔径が徐々に小さくなる場合を連続的減少といい、平均孔径がほぼ均一な数枚の濾過材を平均孔径の大きさ順に積層し、容器内に充填する場合を段階的減少という。特に濾過材が不織布等の繊維の場合、その平均繊維直径が、入口側で $1.5 \mu\text{m} \sim 3.0 \mu\text{m}$ で、出口付近で $0.3 \mu\text{m} \sim 1.9 \mu\text{m}$ の濾過材を用いて白血球除去器とすることができる。更に、その平均繊維直径が、入口側で $1.5 \mu\text{m} \sim 1.8 \mu\text{m}$ で、出口付近で $0.5 \mu\text{m} \sim 1.3 \mu\text{m}$ を用い、これにプレフィルターとして入口側に平均繊維直径が、 $1 \text{ mm} \sim 5 \mu\text{m}$ の白血球除去用フィルターを付与した白血球除去器が良好に用いられる。

#### 【0049】白血球除去器のプレフィルター

更に、本発明の白血球除去器は、採血直後でない血液、例えば採血後1時間以上経過した後の血液を処理する場合等には、血液中に凝集物、例えばマイクロアグリゲート等が生じ、これによる目詰まりが発生する場合がある。この目詰まりを未然に防ぐ為、プレフィルターとして平均孔径が $100 \sim 400 \mu\text{m}$ の濾過材材料を用いることができる。プレフィルターの構造は、繊維体或いは、多孔質体等の該白血球除去フィルターの形態と同様の何れの形態であっても良く、平均孔径が $100 \sim 400 \mu\text{m}$ 或いは平均繊維直径が $5 \mu\text{m} \sim 1 \text{ mm}$ であることが好ましい。

#### 【0050】白血球除去器のプライミングポリウム

本発明の白血球除去器のプライミング量は、何れの量でも良いが、その量は操作性の面及び白血球除去時間の短縮の為少ないことが好まれる。好ましいプライミング量の例を示すと、 $0.5 \sim 300 \text{ ml}$ が良く、更に好ましくは $1 \sim 250 \text{ ml}$ 、最も好ましくは、 $5 \sim 250 \text{ ml}$ である。

#### 【0051】白血球除去器の滅菌方法

滅菌方法は、公知の何れの方法を用いても良いが、敢えて例を挙げるならば、オートクレーブ等の熱滅菌、エチ

レンオキサイドガス（EOG）滅菌、 $\gamma$ 線滅菌、電子線滅菌等の放射線滅菌、UV照射等の滅菌法を使用できる。

#### 【0052】白血球除去器の使用形状

本発明の白血球除去器の使用形状の具体例を示すと、白血球除去器の前後に血液バッグ、血液回路、チェンバー、クランプ、ローラクランプ、ドリップチェンバー、針、メッシュ付きドリップチェンバー、血液ポンプ用チューブ等の何れかもしくは複数組み込んだ体外循環回路又は輸血用回路を用いることができる。又、回路中に組み込まれる器材は、上記に限定されるものではない。更に、血液処理は回路の途中に血液ポンプ或いは送液ポンプ或いは吸引ポンプ等のポンプを組み込んで使用することもできる。又、血液の自重による落差でも良好に用いることができる。

#### 【0053】白血球除去器の用途

本発明の白血球除去器は、輸血用の白血球除去フィルター及び全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、慢性関節リウマチ等の自己免疫疾患患者血からの白血球の除去、白血病、癌患者血からの白血球除去、移植前の免疫機能低下の目的での白血球除去等の体外循環に用いられる他、心臓外科における術後灌流血液中からの白血球の除去、術野血液回収時の骨破片等のゴミ取り、体外循環等で吸着材破片の体内流入防止用等に良好に用いられる。

#### 【0054】白血球除去器の性能

本発明の白血球除去用フィルターを用いた白血球除去器は、血液処理後の白血球残存率が $10^{-4}$ 以下とする事もできる。

#### 【0055】白血球除去方法

本発明は、上記白血球除去フィルター及び白血球除去器を用いた白血球除去方法についても開示している。

#### 【0056】白血球除去条件

本発明は、上記白血球除去フィルター及び白血球除去器を用いて、血液を流速 $1 \sim 100 \text{ ml} / \text{分}$ で流す除去方法であり、この時の線速は、 $0.05 \sim 15 \text{ cm} / \text{分}$ である。流速は遅い方が白血球除去能力は高いが、処理時間が長くなる為、実用上から、より好ましくは、流速が $1 \sim 80 \text{ ml} / \text{分}$ で、線速が $0.1 \sim 10 \text{ cm} / \text{分}$ であるとき、高い白血球除去能力を示す。又、血液の通過方法としては、使用上の必要に応じ、或いは設備の装置状況に応じて、連続的に通過しても良いし、又断続的に通液しても良い。この時血液が長く白血球除去器内に滞留するとそれだけブラジキニンが活性化される。更に高い白血球除去性能を得るためには、滞留時間は長い方が良く、好ましくは白血球除去器内での血漿の滞留時間は10秒以上であるが、長時間血液が白血球除去器内に滞留することは、血液成分の非特異吸着や血液凝固を引き起こす危険性が生じるため、滞留時間は30分以下であることが好ましい。本発明が特に優れた効果を発揮するの

10

20

30

40

50

は、滯溜時間が1分以上で血液を処理する場合である。

#### 【0057】返血時間

ブラジキニン血漿中のアンジオテンシン転換酵素等のキニン分解酵素によって徐々に分解される。白血球除去器で処理後、時間をおいて血漿を体内に注入する場合はブラジキニンの上昇は問題とならない。本発明の効果は白血球除去器で処理後の血液を速やかに体内に注入するときに高い効果を発揮する。具体的には血液が白血球除去器流出後1時間以内に注入するときに、本発明は効果的に用いられる。更に30分以内に注入するときより高い効果が得られ、10分以内に注入する用途に用いる時特に好ましい。最も好ましくは体外循環など処理後直ちに用いる場合である。

#### 【0058】白血球除去方法

本発明の白血球除去方法では、新鮮全血や、新鮮血小板濃厚液、保存血等の血液製剤を該白血球除去器を用いて、白血球を粘着除去する物である。血液製剤の例を挙げると、クエン酸系の抗凝固剤(ACD-A、ACD-B、ACD-C、CPD)を加えた赤血球濃厚液(CRC)、又は濃厚血小板液(PC)及び赤血球保存液としてMAP(Mannitol-adenine-phosphate)又はSAGM(Saline-Adenine-Glucose-Mannitol)又はAD SOLを加えたCRC等があり、これらの白血球を血液キニンの血中濃度を上昇させずに白血球除去処理する目的でも使用できる。更に、該白血球除去器を用いて血液キニンの血中濃度を上昇させずに体外循環により白血球を除去する事ができる。

#### 【0059】白血球除去時の抗凝固剤

本発明の白血球除去方法において、使用できる抗凝固剤に特に限定はないが、例を挙げると、ACD-A、CPD、エチレンジアミンテトラアミン4酢酸(EDTA)へパリン、MAP、メシル酸ナファモスタット、等である。本発明の効果がより大きく発揮されるのはクエン酸系のACD-A、CPD、へパリンで、より効果が発揮されるのは、クエン酸系のACD-A、CPDを用いた時であり、血液キニン濃度を上昇させることなく白血球を除去できる。更に、カプトプリル等のアンジオテンシン転換酵素阻害剤(ACD-インヒビター)を用いている患者血においても、血液キニン濃度を上昇させることなく白血球を除去できる。特に、メシル酸ナファモスタットを抗凝固剤として含む血液や、ACE-インヒビターを含まない血液を、本発明の白血球除去器を用いて処理する時、キニン上昇の点で最も好ましい結果が得られる。

【0060】本発明の白血球除去フィルターを用いれば、血液キニンの血中濃度を4000pg/ml以上に変化させずに白血球を除去することができる。

#### 【0061】

#### 【実施例】

【実施例1】乾燥機を用いてポリエチレンテレフタレート(極限粘度 $\eta=0.49$ )(PET)の原料チップ(比重1.37)を十分乾燥した後、ラインを通じてホッパードライヤーにて乾燥したまま、溶融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離(ディスタンス長)を、10cmに設定し、目付け40g/m<sup>2</sup>、厚み0.32mm、密度0.125の平均繊維直径1.6 $\mu$ m不織布を紡糸した。この乾燥時のチップ水分率は11ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は320℃、スチーム温度は380℃で、スチーム圧は2.5気圧、吐出量は0.2g/minであった。この不織布のCWS T値は58dyne/cmで、平均孔径5.3 $\mu$ mであった。この不織布の表面陰性荷電量を測定した。不織布を予め80%エタノールで十分洗浄して、溶出物を除去した。該不織布を十分に乾燥させた後、1gを秤量し、5%ヨウ化カリウム(wt/wt)を溶解したメタノール液50mlに浸漬した。これを30℃、24時間振とう下で反応させた。反応後、上清を回収して359nm及び290nmで吸光度測定を行った。この時対照(ブランク)として上記反応で用いたのと同じ5%ヨウ化カリウムを溶解したメタノール液を用いた。別にポリプロピレンとポリエチレンとの2成分からなる不織布に、放射線グラフト法にてメタクリル酸0.572meq/gを固定した不織布(平均繊維直径1.5 $\mu$ m)を重量をかって用いて上記と同様に359nm及び290nmで吸光度を測定をした。この不織布の表面陰性荷電量は、予めECH-Sepharose 4b(Pharmacia社製)を対照にして測定した。この測定値より吸光度と表面陰性荷電量との検量線を作製し、この検量線より検体の表面陰性荷電量を算定した。このPET不織布の陰性荷電量は、25.5 $\mu$ eq/gであった。更に不織布のキニン生成能は次のようにして測定した。抗凝固剤としてCPDを用いて採取した後、処理された赤血球濃厚液(ヘマトクリット値65%)をACD-A11.1%を含む生理食塩液でヘマトクリット値を45%に調製して試験血液として用いた。この試験血液5mlを採取し、ポリカーボネート製三角フラスコに入れ、1.35 $\times$ 4.04cmの不織布を添加して、37℃、5分間反応させた。反応後血液を速やかに回収し、直ちに氷冷下でトラジロール5,000U、大豆トリプシンインヒビター2mg、硫酸プロタミン5mg、エチレンジアミンテトラ酢酸ナトリウム20mgを加えて混合し、4℃で3,000rpm $\times$ 10分間遠心して、上清を回収した。この上清中のブラジキニン濃度をラジオアイソトープを用いたポリエチレングリコール沈澱法にて定量したところ、772pg/mlであった。この時同時に、不織布を加えずに反応させた対照では、血漿中のブラジキニン濃度は65.4pg/mlであり、不織布存在下でのブラジキニン濃度の上昇があったものの、対照の10倍程度の軽微な上昇であった。



## 【0062】

【実施例2】乾燥機を用いてポリエチレンテレフタレート（極限粘度 $\eta=0.49$ ）の原料チップ（比重1.37）を十分乾燥した後、ラインを通じてホッパードライヤーにて乾燥したまま、熔融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、10cmに設定し、目付け40g/m<sup>2</sup>、厚み0.32mm、密度0.125の平均繊維直径2.4 $\mu$ m不織布を紡糸した。この乾燥時のチップ水分率は13ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310℃、スチーム温度は330℃で、スチーム圧は3.5気圧、吐出量は0.2g/minであった。この不織布のCWST値は60dyne/cmで、平均孔径15.3 $\mu$ mであった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ26.0 $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は912pg/mlであり、極僅かの上昇しか認められなかった。

## 【0063】

【実施例3】乾燥機を用いてポリエチレンテレフタレート（極限粘度 $\eta=0.49$ ）の原料チップ（比重1.37）を十分乾燥した後、ラインを通じてホッパードライヤーにて乾燥したまま、熔融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、10cmに設定し、目付け40g/m<sup>2</sup>、厚み0.32mm、密度0.125の平均繊維直径1.8 $\mu$ m不織布を紡糸した。この乾燥時のチップ水分率は15ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310℃、スチーム温度は365℃で、スチーム圧は3.0気圧、吐出量は0.2g/minであった。この不織布のCWST値は58dyne/cmで、平均孔径12.5 $\mu$ mであった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ25.0 $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は650pg/mlであり、極僅かの上昇しか認められなかった。

## 【0064】

【実施例4】乾燥機を用いてポリエチレンテレフタレート（極限粘度 $\eta=0.49$ ）の原料チップ（比重1.37）を十分乾燥した後、ラインを通じてホッパードライヤーにて乾燥したまま、熔融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、10cmに設定し、目付け40g/m<sup>2</sup>、厚み0.32mm、密度0.125の平均繊維直径1.2 $\mu$ m不織布を紡糸した。この乾燥時のチップ水分率は6ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310℃、スチーム温度は320℃で、スチーム圧は2.5気圧、吐出量は0.3g/minであった。この不織布のCWST値は58dyne/cmで、平均孔径2.9 $\mu$ mであった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定し

たところ21.0 $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は491pg/mlであり、極僅かの上昇しか認められなかった。

## 【0065】

【比較例1】実施例1と同じ原料チップ（比重1.37）を用い、ホッパードライヤー乾燥を行わずに、熔融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、60cmに設定し、目付け40g/m<sup>2</sup>、厚み0.32mm、密度0.125の平均繊維直径1.7 $\mu$ m不織布を紡糸した。このチップ水分率は50ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310℃、スチーム温度は320℃で、スチーム圧は2.5気圧、吐出量は0.2g/minであった。この不織布のCWST値は64dyne/cmで、平均孔径12.5 $\mu$ mであった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ41.2 $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は4,000pg/mlであり、非常に顕著な上昇が認められた。

## 【0066】

【比較例2】実施例1と同じ原料チップ（比重1.37）を用い、ホッパードライヤー乾燥を行わずに、熔融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、60cmに設定し、目付け40g/m<sup>2</sup>、厚み0.32mm、密度0.125の平均繊維直径1.7 $\mu$ m不織布を紡糸した。このチップ水分率は2350ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310℃、スチーム温度は350℃で、スチーム圧は3.5気圧、吐出量は0.25g/minであった。この不織布のCWST値は66dyne/cmで、平均孔径12.5 $\mu$ mであった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ79.5 $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は14,000pg/ml以上の、非常に顕著な上昇が認められた。

## 【0067】

【実施例5】乾燥機を用いてポリエチレンテレフタレート（極限粘度 $\eta=0.49$ ）の原料チップ（比重1.37）を十分乾燥した後、ラインを通じてホッパードライヤーにて乾燥したまま、熔融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、10cmに設定し、目付け40g/m<sup>2</sup>、厚み0.32mm、密度0.125の平均繊維直径1.6 $\mu$ m不織布を紡糸した。この乾燥時のチップ水分率は15ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310℃、スチーム温度は365℃で、スチーム圧は3.0気圧、吐出量は0.2g/minであった。この不織布のCWST値は



58 dyne/cmで、平均孔径11.2  $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.85 ml/ml、全細孔面積が0.89 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の98%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ25.1  $\mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は650 pg/mlであり、極僅かの上昇しか認められなかった。  
【0068】

【実施例6】乾燥機を用いてポリブチレンテレフタレート（固相粘度 $\eta=0.85$ ）の原料チップ（比重1.31）を十分乾燥した後、ラインを通じてホッパードライヤーにて乾燥したまま、溶融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、10 cmに設定し、目付け40 g/m<sup>2</sup>、厚み0.32 mm、密度0.125の平均繊維直径1.7  $\mu\text{m}$ 不織布を紡糸した。この乾燥時のチップ水分率は15 ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310°C、スチーム温度は365°Cで、スチーム圧は3.0気圧、吐出量は0.2 g/minであった。この不織布のCWST値は58 dyne/cmで、平均孔径15.2  $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.81 ml/ml、全細孔面積が0.89 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の97%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ25.0  $\mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は650 pg/mlであり、極僅かの上昇しか認められなかった。  
【0069】

【比較例3】実施例3と同じ原料チップ（比重1.37）を用い、ホッパードライヤー乾燥を行わずに、溶融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、60 cmに設定し、目付け40 g/m<sup>2</sup>、厚み0.32 mm、密度0.125の平均繊維直径1.6  $\mu\text{m}$ 不織布を紡糸した。このチップ水分率は50 ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は310°C、スチーム温度は350°Cで、スチーム圧は2.7気圧、吐出量は0.2 g/minであった。この不織布のCWST値は62 dyne/cmで、平均孔径15.1  $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.75 ml/ml、全細孔面積が0.80 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の71%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ55.0  $\mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は7200 pg/mlであり、非常に顕著な上昇が認められた。

【0070】

【実施例7】乾燥機を用いてポリエチレンテレフタレート（極限粘度 $\eta=0.49$ ）の原料チップ（比重1.3

7）を十分乾燥した後、ラインを通じてホッパードライヤーにて乾燥したまま、溶融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、10 cmに設定し、目付け40 g/m<sup>2</sup>、厚み0.32 mm、密度0.174の平均繊維直径1.2  $\mu\text{m}$ 不織布を紡糸した。この乾燥時のチップ水分率は15 ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は320°C、スチーム温度は380°Cで、スチーム圧は2.8気圧、吐出量は0.2 g/minであった。この不織布のCWST値は60 dyne/cmで、平均孔径12.5  $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.86 ml/ml、全細孔面積が0.95 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の98%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ22.0  $\mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は620 pg/mlであり、極僅かの上昇しか認められなかった。

【0071】

【比較例4】実施例4と同じ原料チップを用い、ホッパードライヤー乾燥を行わずに、溶融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、60 cmに設定し、目付け40 g/m<sup>2</sup>、厚み0.32 mm、密度0.125の平均繊維直径1.6  $\mu\text{m}$ 不織布を紡糸した。このチップ水分率は50 ppmであった。押し出し成形時の押し出し温度は320°C、スチーム温度は360°Cで、スチーム圧は2.6気圧、吐出量は0.2 g/minであった。この不織布のCWST値は62 dyne/cmで、平均孔径15.2  $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.85 ml/ml、全細孔面積が0.90 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の97%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ53.0  $\mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は7000 pg/mlであり、非常に顕著な上昇が認められた。

【0072】

【比較例5】ポリプロピレンチップ（比重0.90）を溶融押し出し紡糸し、紡口からネット面までの距離（ディスタンス長）を、45 cmに設定し、目付け60 g/m<sup>2</sup>、厚み0.23 mm、平均繊維直径1.2  $\mu\text{m}$ 不織布を紡糸した。この不織布のCWST値は20 dyne/cmで、平均孔径13.2  $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.89 ml/ml、全細孔面積が0.92 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の95%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ22.0  $\mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン濃度を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は420 pg/mlであったが、この不織布は親水性が低いため血液があまり浸漬しなかった。

## 【0073】

【比較例6】公知の放射線グラフト法により、0.43重量%の2-ヒドロキシエチルメタクリレートと0.082重量%のメタクリル酸とともに0.4重量%のt-ブタノールを含んだ水溶液中にポリブチレンテレフタレート不織布を浸漬し、窒素バブリングを行い、重合溶液中の溶存ガスを窒素置換した。これに $\gamma$ 線を27.3 kGy (1.2 kGy/時間) 照射してグラフト重合させた。この不織布のCWST値は102 dyne/cmで、平均繊維直径2.3  $\mu$ m、平均孔径10.2  $\mu$ m、全細孔容積が0.87 ml/ml、全細孔面積が0.93 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu$ mの孔径の細孔容積が全体の97%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ112  $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は12,000 pg/mlであり、上昇が認められた。

## 【0074】

【比較例7】公知の放射線グラフト法により、0.43重量%の2-ヒドロキシエチルメタクリレートと0.082重量%のメタクリル酸メチルとともに0.4重量%のt-ブタノールを含んだ水溶液中にポリブチレンテレフタレート不織布を浸漬し、窒素バブリングを行い、重合溶液中の溶存ガスを窒素置換した。これに $\gamma$ 線を27.3 kGy (1.2 kGy/時間) 照射してグラフト重合させた。この不織布のCWST値は90 dyne/cmで、平均繊維直径1.8  $\mu$ m、平均孔径9.78  $\mu$ m、全細孔容積が0.87 ml/ml、全細孔面積が0.94 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu$ mの孔径の細孔容積が全体の96%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ125  $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は14,000 pg/mlであり、非常に顕著な上昇が認められた。

## 【0075】

【実施例8】比較例2で用いた不織布と同様のポリエチレンテレフタレート不織布に、比較例5と同様な方法の公知の放射線グラフト法により、0.4重量%の2-ヒドロキシエチルメタクリレートを0.012重量%のN、N-ジメチルアミノエチルメタクリレートとともに、0.4重量%のt-ブタノールを含んだ水溶液を用いてグラフトした。この不織布のCWST値は102 dyne/cmで、平均孔径12.3  $\mu$ m、全細孔容積が0.86 ml/ml、全細孔面積が0.88 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu$ mの孔径の細孔容積が全体の96%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ23.3  $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は700 pg/ml

であり、極僅かの上昇しか認められなかった。

## 【0076】

【比較例8】公知の放射線グラフト法により、p-スチレンスルホン酸2.5重量%のメタノール溶液中に平均繊維径が1.53  $\mu$ mのポリエチレン/ポリプロピレン(1:1)の組成よりなる不織布を浸漬し、窒素を通気して脱気した。この溶液に $\gamma$ 線を27.3 kGy (1.2 kGy/時間) 照射してグラフト重合させた。この不織布のCWST値は104 dyne/cmで、平均孔径9.9  $\mu$ m、全細孔容積が0.87 ml/ml、全細孔面積が0.89 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu$ mの孔径の細孔容積が全体の98%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ123  $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は13,200 pg/mlであり、非常に顕著な上昇が認められた。

## 【0077】

【実施例9】比較例2で用いた不織布と同様のポリエチレンテレフタレート不織布に、公知のプラズマ照射グラフト法により、10重量%のメトキシトリエチレングリコールメタクリレートを0.5重量%のN、N-ジメチルアミノエチルメタクリレートとともに、メタノール溶液に含浸した後、溶液から取り出し、真空乾燥機により溶媒を蒸発した後、プラズマ照射を3分に行い、グラフトした。この不織布のCWST値は74 dyne/cmで、平均孔径12.5  $\mu$ m、全細孔容積が0.86 ml/ml、全細孔面積が0.88 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu$ mの孔径の細孔容積が全体の96%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ24.0  $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は712 pg/mlであり、極僅かの上昇しか認められなかった。

## 【0078】

【実施例10】ポリビニルホルマールの高分子多孔質体(比重1.2)に実施例5と同様の操作で公知のプラズマ照射グラフト法により、10重量%のメトキシノナエチレングリコールメタクリレートを0.5重量%のN、N-ジメチルアミノエチルメタクリレートとともに、メタノール溶液に含浸した後、溶液から取り出し、真空乾燥機により溶媒を蒸発した後、グラフトした。この高分子多孔質体のCWST値は74 dyne/cmで、平均孔径8.2  $\mu$ m、全細孔容積が0.86 ml/ml、全細孔面積が0.79 m<sup>2</sup>/ml、1~30  $\mu$ mの孔径の細孔容積が全体の92%であった。この高分子多孔質体の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ23.0  $\mu$ eq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は672 pg/mlであり、極僅か

の上昇しか認められなかった。

【0079】

【実施例11】ポリビニルホルマールの高分子多孔質体（比重1.2）に実施例5と同様の操作で公知のプラズマ照射グラフト法により、10重量%のメトキシトリエチレングリコールメタクリレートと0.5重量%のN,N-ジメチルアミノエチルメタクリレートとともに、メタノール溶液に含浸した後、溶液から取り出し、真空乾燥機により溶媒を蒸発した後、グラフトした。この高分子多孔質体のCWS T値は74 dyne/cmで、平均孔径30 μm、全細孔容積が、0.82 ml/ml、全細孔面積が0.77 m<sup>2</sup>/ml、1~30 μmの孔径の細孔容積が全体の91%であった。この高分子多孔質体の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ23.6 μeq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は872 pg/mlであり、極僅かの

【0080】

【比較例9】実施例10で用いたのと同様のポリビニルホルマールの高分子多孔質体に公知の放射線グラフト法により、2重量%のモノ（2-メタクリロイルオキシエチル）アシッドフォスフェートを用いてグラフトした。この高分子多孔質体の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ118 μeq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は12,700 pg/mlであり、非常に顕著な上昇が認められた。

【0081】

【実施例12】ポリウレタン（比重1.2）の高分子多孔質体に比較例7と同様の操作で公知の放射線グラフト法により、10重量%のメトキシトリエチレングリコールメタクリレートとメタノール溶液に含浸した後、溶液から取り出し、真空乾燥機により溶媒を蒸発した後、グラフトした。この高分子多孔質体のCWS T値は88 dyne/cmで、平均孔径8.8 μm、全細孔容積が、0.85 ml/ml、全細孔面積が0.90 m<sup>2</sup>/ml、1~30 μmの孔径の細孔容積が全体の95%であった。この高分子多孔質体の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ21.0 μeq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は472 pg/mlであり、極僅かの

【0082】

【比較例10】実施例12で用いたのと同様のポリウレタンの高分子多孔質体に公知の放射線グラフト法により、0.43重量%の2-ヒドロキシルエチルメタクリレートと0.082重量%のメタクリル酸とともに0.4重量%のt-ブタノールを含んだ水溶液中にポリウレタン高分子多孔質体を浸漬し、窒素バブリングを行い、

重合溶液中の溶存ガスを窒素置換した。これにγ線を25.3 kGy（1.2 kGy/時間）照射してグラフト重合させた。この高分子多孔質体のCWS T値は98 dyne/cmで、平均孔径8.8 μm、全細孔容積が、0.85 ml/ml、全細孔面積が0.90 m<sup>2</sup>/ml、1~30 μmの孔径の細孔容積が全体の95%であった。この高分子多孔質体の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ128 μeq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は14,400 pg/mlであり、非常に顕著な上昇が認められた。

【0083】

【実施例13】比較例4の不織布に、公知のジアゾメタンを用いて、エステル化反応を行いカルボキシル基の一部を、エステル化した。この不織布のCWS T値は58 dyne/cmで、平均繊維直径1.6 μm、平均孔径8.2 μmであった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ27.0 μeq/g、1~30 μmの孔径の細孔容積が全体の95%であった。更に、実施例1の方法によって、ブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は820 pg/mlであり、上昇が認められなかった。

【0084】

【実施例14】比較例2の不織布に、公知のジアゾメタンを用いて、エステル化反応を行いカルボキシル基の一部を、エステル化した。この不織布のCWS T値は60 dyne/cmで、平均繊維直径1.7 μm、平均孔径12.5 μm、1~30 μmの孔径の細孔容積が全体の97%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ24.0 μeq/gであった。更に、実施例1の方法によって、ブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は620 pg/mlであり、上昇が認められなかった。

【0085】

【実施例15】公知の放射線グラフト法により合成した比較例8の不織布に、公知のジアゾメタンを用いて、エステル化反応を行いカルボキシル基の一部を、エステル化した。この不織布のCWS T値は84 dyne/cmで、平均繊維直径1.5 μm、平均孔径9.9 μm、1~30 μmの孔径の細孔容積が全体の98%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ29 μeq/gであった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は900 pg/mlであり、上昇が認められなかった。

【0086】

【実施例16】公知の放射線グラフト法により合成した比較例8の不織布に、公知のアミド化剤であるジシクロヘキシルカルボジイミドを用いて、ジエチルアミンと反

応を行い、アミド化反応を行いカルボキシル基の一部をアミドとした。この不織布のCWS T値は $82 \text{ dyne/cm}$ で、平均繊維直径 $1.5 \mu\text{m}$ 、平均孔径 $9.9 \mu\text{m}$ 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の98%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ $22.0 \mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は $650 \text{ pg/ml}$ であり、顕著な上昇が認められなかった。

#### 【0087】

【実施例17】比較例10で用いたのと同様のポリウレタンの高分子多孔質体に、公知のジアソメタンを用いて、エステル化反応を行いカルボキシル基の一部を、エステル化した。この不織布のCWS T値は $78 \text{ dyne/cm}$ で、平均孔径 $8.6 \mu\text{m}$ 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の95%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ $28 \mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は $870 \text{ pg/ml}$ であり、上昇が認められなかった。

#### 【0088】

【実施例18】比較例9で用いたのと同じのポリビニルホルマールの高分子多孔質体に、公知のジアソメタンを用いて、エステル化反応を行い磷酸基の一部を、エステル化した。この不織布のCWS T値は $80 \text{ dyne/cm}$ で、平均孔径 $8.2 \mu\text{m}$ 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の92%であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ $29.0 \mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は $970 \text{ pg/ml}$ であり、顕著な上昇が認められなかった。

#### 【0089】

【実施例19】比較例2の不織布に、公知の放射線グラフト法にてメトキシトリエチレングリコールメタクリレートを用いて、表面の一部を被った。この不織布のCWS T値は $74 \text{ dyne/cm}$ で、平均繊維直径 $1.7 \mu\text{m}$ 、平均孔径 $12.5 \mu\text{m}$ であった。この不織布の表面陰性荷電量を実施例1の方法により測定したところ $28.5 \mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は $850 \text{ pg/ml}$ であり、上昇が認められなかった。

#### 【0090】

【実施例20】100%エタノール中に、N、N-ジメチルアミノエチルメタクリレート（以下DMと略す）を $0.015 \text{ mol/l}$ 、2-ヒドロキシエチルメタクリレート（以下HEMAと略す）を $0.05 \text{ mol/l}$ 、メチルメタクリレート（以下MMAと略す）を $0.03$

$\text{mol/l}$ 及びメタクリル酸（以下MAAと略す）を $0.0003 \text{ mol/l}$ の濃度になるように加え、全量を $250 \text{ ml}$ とした。重合開始剤としてアゾビスイソブチロニトリル（AIBN）を $0.01 \text{ mol/l}$ の濃度になるように加え、窒素雰囲気下、 $45^\circ\text{C}$ にて4.5時間重合させた後、蒸留水に滴下して析出した物質を集めて凍結乾燥し、DMとHEMA及びMAAとの共重合体を得た。比較例2の平均繊維直径 $1.7 \mu\text{m}$ のポリエステル不織布を充填密度 $0.2 \text{ g/cm}^3$ 、厚み $3 \text{ mm}$ になるように、有効濾過面積 $65 \text{ mm} \times 65 \text{ mm}$ の容器に充填した後、上記の共重合体を100%エタノール溶液に $0.01 \text{ g/dl}$ の濃度になるように溶解した共重合体液を上記容器に充填し1分間静置した。次いで窒素ガスによって充填した共重合体液を追い出した後、更に10分間窒素ガスを流し続け、更に $70^\circ\text{C}$ で7時間真空乾燥させることにより、上記共重合体をポリエステル不織布にコーティングした白血球除去フィルター材を作成した。この不織布のCWS T値は $102 \text{ dyne/cm}$ で、平均繊維直径 $1.7 \mu\text{m}$ 、平均孔径は $12.5 \mu\text{m}$ であった。この不織布の表面陰性荷電量をポリマーの酸塩基滴定法により測定したところ $28 \mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は $950 \text{ pg/ml}$ であり、顕著な上昇は認められなかった。

#### 【0091】

【実施例21】ポリエチレンテレフタレートからなる実施例5と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、 $1.6 \mu\text{m}$ 、平均孔径が $11.2 \mu\text{m}$ 、全細孔容積が、 $0.85 \text{ ml/ml}$ 、全細孔面積が $0.95 \text{ m}^2/\text{ml}$ 、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の98%であった。これを断面積が $49 \times 49 \text{ mm}$ の入口と出口を有する容器に充填し、フィルター材の厚みを $3.3 \text{ mm}$ とした。 $450 \text{ ml}$ の血液に $63 \text{ ml}$ のCPD液（citrate phosphate dextrose solution）を加えて調製した全血 $513 \text{ ml}$ から、採血後8時間以内に遠心分離により多血小板血漿 $243 \text{ ml}$ を除去して調製し、 $4^\circ\text{C}$ で15日間保存した赤血球製剤（ヘマトクリット68%）を、 $25^\circ\text{C}$ になるまで室温（ $26.5^\circ\text{C}$ ）に放置した後、ゲル捕捉用として、平均繊維径が $20 \mu\text{m}$ のニードル繊維体、マイクロアグリゲート（MA）捕捉用として平均繊維径が、 $3 \mu\text{m}$ の不織布、第1ステージの白血球除去フィルターとして繊維径 $2.2 \mu\text{m}$ の不織布を、有効断面積が $67 \times 67 \text{ mm}$ の容器に充填して作成したフィルターで処理し、ゲル、MA及び90%の白血球を除去した後、該赤血球製剤 $200 \text{ ml}$ を新しい血液バッグに移し、上記の白血球除去器で濾過した。濾過を開始するに当たり、除去器を血液回路を介して赤血球製剤が入っている血液バッグに接続した後、除去器内に血液を満たした。かくして血液が除去器内に満たされた後、ペリスタポンプを用いて

10

20

30

40

50

5ml/分の一定流速で流し続け、濾過に伴う圧力損失をデジタル式の圧力計で測定した。濾過の終了は、血液バッグ内の血液がなくなった時点とし、フィルター装置下流に血液回路を介して接続した回収バッグをフィルター装置の血液出口の下流30~40cmのところで回路ごと切断し、回路及び回収バッグ内の血小板製剤を回収液とした。

【0092】濾過前の赤血球製剤（以下、濾過前液という）及び回収液の体積、血小板数、白血球数を測定し、赤血球回収率及び白血球残存率を求めた。

赤血球回収率 = {回収液体積 × ヘマトクリット（回収液）} / {濾過前液体積 × ヘマトクリット（濾過前液）}

白血球残存率 = {白血球数（回収液）} / {濾過前液体積 × 白血球濃度（濾過前液）}

なお、濾過前液及び回収液の体積は、それぞれの重量を比重1.075で割った値とした。また白血球濃度の測定は次の方法で行った。

濾過前液の白血球濃度の測定：チュルク液によって、10倍希釈した濾過前液をビルケルチュルク型の血球計算板に注入し、光学顕微鏡を用いて大区画4区画中に存在する白血球をカウントし、この値を $n_{pre}$ とした。

白血球濃度（濾過前） =  $n_{pre} \times 0.25 \times 10^5$  個/ml

【0093】また、回収液の白血球数の測定は、以下に

$$\text{回収液白血球数} = n_2 \times (1/108) \times 10^4 \times 0.55 \times (1/0.55) \times \{\text{回収液体積 (ml)}\} / 100$$

下線部が回収液100mlからフィコール液を用いて最終的に0.55mlまで濃縮した液（以下濃縮液という）中の白血球濃度（個/ml）であり、これに濃縮液の体積0.55mlを乗じて白血球数を算出する。更に0.55で割るのは、フィコール液を用いて白血球を回収する際の回収率が55%であるためである。以上の結果、白血球残存率は $10^{-4.5}$ であった。濾過終了時の圧力損失は26mmHgであった。血液の出口側よりサンプリングした血液の血漿中のブラジキニン濃度は750pg/mlであり、上昇がほとんど認められなかった。

【0094】

【比較例11】ポリエチレンテレフタレートからなる比較例3と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、1.6μm、平均孔径が15.1μm、全細孔容積が、0.85ml/ml、全細孔面積が0.89m<sup>2</sup>/ml、1~30μmの孔径の細孔容積が全体の97%であった。これを断面積が49×49mmの入口と出口を有する容器に充填し、フィルター材の厚みを3.3mmとした。450mlの血液に63mlのCPD液（citrate phosphate dextrose solution）を加えて調製した全血513mlから、採血後8時間以内に遠心分離により多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で15日間保存した

示す方法によって行った。

回収液の白血球数の測定：回収液100mlに5%フィコール400DLをEBSS溶液（以下フィコール液という）100mlを振とう混和しながら加えた後、40分静置した。静置後、沈降している赤血球層を乱さないように注意深く上澄を回収した後、再び100mlのフィコール液を加え、同様の操作を繰り返した。2回の操作により回収された上澄をコーニング25350遠心チューブに分注し、840×g、15分遠心し、沈査を吸い上げぬように注意しながら、上澄をアスピレータで廃棄した。各遠心チューブに200mlの溶血液（1.145%しゅう酸アンモニウム生理食塩液）を加えて振とう混和し、ただちに468×g、10分間遠心し、沈査を吸い上げぬように注意しながら、上澄をアスピレータで廃棄した。沈査を容量15mlの遠心チューブに集め、溶血液を加えて全量を15mlとした後、10分間室温に静置した。静置後、468×g、10分間遠心し、沈査を含む0.5mlを残して、上澄を慎重に廃棄した。沈査を含む液を十分に攪拌して単一細胞浮遊液とした後、蛍光染色液（69.9mg/1アクリジンオレンジ液）50μlを加え、更に攪拌した。この液を、改良型ノイバウエル式血球計算盤6枚に注入し、落射式蛍光顕微鏡を用いて大区画108区画中に存在する白血球をカウントした。このカウント値 $n_2$ から次式によって、回収液白血球数を算出した。

赤血球製剤（ヘマトクリット68%）を、25℃になるまで室温（26.5℃）に放置した後、ゲル捕捉用として、平均繊維径が20μmのニードル繊維体、マイクロアグリゲート（MA）捕捉用として平均繊維径が、3μmの不織布、第1ステージの白血球除去フィルターとして繊維径2.2μmの不織布を、有効断面積が67×67mmの容器に充填して作成したフィルターで処理し、ゲル、MA及び90%の白血球を除去した後、該赤血球製剤200mlを新しい血液バッグに移し、上記の白血球除去器で濾過した。実施例21と同様の操作を行った結果、白血球残存率は $10^{-4.4}$ であった。濾過終了時の圧力損失は28mmHgであった。更に血液の出口側よりサンプリングした血液の血漿中のブラジキニン濃度は4700pg/mlであり、濾過前血液血漿中の濃度62pg/mlに比べ、顕著な上昇が認められた。

【0095】

【実施例22】ポリエチレンテレフタレート（チップ水分率13ppm）からなる実施例1と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、1.7μm、平均孔径が9.4μm、全細孔容積が、0.81ml/ml、全細孔面積が0.91m<sup>2</sup>/ml、1~30μmの孔径の細孔容積が全体の98%であった。これを断面積が49×49mmの入口と出口を有する容器に充填し、フィルタ



一材の厚みを3.3mmとした。450mlの血液に63mlのCPD液(citrate phosphate dextrose solution)を加えて調製した全血513mlから、採血後8時間以内に遠心分離によって多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で15日間保存した赤血球製剤(ヘマトクリット68%)を、25℃になるまで室温(26.5℃)に放置した後、上記の白血球除去器で濾過した。実施例21と同様の操作を行った結果、白血球残存率は10<sup>-4.0</sup>、であった。濾過終了時の圧力損失は50mmHgであった。この不織布の表面陰性荷電量は、25.6μeq/gであった。血液の出口側よりサンプリングした血液の血漿中のブラジキニン濃度は725pg/mlであり、濾過前血液血漿中の濃度73pg/mlに比べ、上昇がほとんど認められた。

#### 【0096】

【比較例12】ポリエチレンテレフタレート(原料チップ水分率50ppm)からなる比較例1と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、1.7μm、平均孔径が32.2μm、全細孔容積が、0.40ml/m<sup>2</sup>、全細孔面積が0.50m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>、1~30μmの孔径の細孔容積が全体の60%であった。これを断面積が49×49mmの入口と出口を有する容器に充填し、フィルター材の厚みを3.3mmとした。450mlの血液に63mlのCPD液(citrate phosphate dextrose solution)を加えて調製した全血513mlから、採血後8時間以内に遠心分離により多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で15日間保存した赤血球製剤(ヘマトクリット68%)を、25℃になるまで室温(26.5℃)に放置した後、上記の白血球除去器で濾過した。実施例13と同様の操作を行った結果、白血球残存率は10<sup>-2.1</sup>、であった。濾過終了時の圧力損失は28mmHgであった。この不織布の表面陰性荷電量は、42.6μeq/gであった。更に血液の出口側よりサンプリングした血液の血漿中のブラジキニン濃度は5700pg/mlであり、濾過前血液血漿中の濃度173pg/mlに比べ、顕著な上昇が認められた。

#### 【0097】

【実施例23】ポリエチレンテレフタレート(チップ水分率13ppm)からなる実施例1と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、1.6μm、平均孔径が9.2μm、全細孔容積が、0.82ml/m<sup>2</sup>、全細孔面積が0.92m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>、1~30μmの孔径の細孔容積が全体の98%であった。これを断面積が49×49mmの入口と出口を有する容器に厚み3.3mmに充填し、更に入口側に平均繊維直径2.4μm、平均孔径30μmのPET(チップ水分率13ppm)からなる不織布を厚み0.7mm充填し、フィルター材の厚みを4.0mmとした。450mlの血液に67.5ml

のACD-A液(acid citratedextrose-A)を加えて調製した全血517.5mlから、採血後8時間以内に遠心分離により多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で15日間保存した赤血球製剤(ヘマトクリット68%)を、25℃になるまで室温(26.5℃)に放置した後、上記の白血球除去器で濾過した。結果、白血球残存率は10<sup>-4.5</sup>、であった。濾過終了時の圧力損失は22mmHgであった。この不織布の表面陰性荷電量は、23.6μeq/gであった。血液の出口側よりサンプリングした血液の血漿中のブラジキニン濃度は872pg/mlであり、濾過前血液血漿中の濃度73pg/mlに比べ、上昇がほとんど認められなかった。

#### 【0098】

【比較例13】ポリエチレンテレフタレート(チップ水分率53ppm)からなる比較例1と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、1.7μm、平均孔径が12.5μm、全細孔容積が、0.86ml/m<sup>2</sup>、全細孔面積が0.88m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>、1~30μmの孔径の細孔容積が全体の98%であった。これを断面積が49×49mmの入口と出口を有する容器に厚み3.3mmに充填し、更に上流側に平均繊維直径2.4μm、平均孔径30μmのPET(チップ水分率13ppm)からなる不織布を厚み0.7mm充填し、フィルター材の厚みを4.0mmとした。450mlの血液に67.5mlのACD-A液(acid citratedextrose-A)を加えて調製した全血517.5mlから、採血後8時間以内に遠心分離により多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で15日間保存した赤血球製剤(ヘマトクリット68%)を、25℃になるまで室温(26.5℃)に放置した後、上記の白血球除去器で濾過した。結果、白血球残存率は10<sup>-4.9</sup>、であった。濾過終了時の圧力損失は22mmHgであった。この不織布の表面陰性荷電量は、それぞれ22.6μeq/g(上流側)と41.2μeq/g(下流側)であった。血液の出口側よりサンプリングした血液の血漿中のブラジキニン濃度は4500pg/mlであり、濾過前血液血漿中の濃度73pg/mlに比べ、上昇が認められた。

#### 【0099】

【比較例14】ポリエチレンテレフタレート(チップ水分率15ppm)からなる実施例1と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、1.8μm、平均孔径が12.5μm、全細孔容積が、0.86ml/m<sup>2</sup>、全細孔面積が0.89m<sup>2</sup>/m<sup>2</sup>、1~30μmの孔径の細孔容積が全体の97%であった。これを断面積が49×49mmの入口と出口を有する容器に厚み3.3mmに充填し、更に上流側に平均繊維直径2.4μm、平均孔径30μmのPET(チップ水分率55ppm)からなる不織布を厚み0.7mm充填し、フィルター材の厚み



を4.0mmとした。450mlの血液に67.5mlのACD-A液(acid citratedextrose-A)を加えて調製した全血517.5mlから、採血後8時間以内に遠心分離により多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で15日間保存した赤血球製剤(ヘマトクリット68%)を、25℃になるまで室温(26.5℃)に放置した後、上記の白血球除去器で濾過した。結果、白血球残存率は $10^{-4.9}$ 、であった。濾過終了時の圧力損失は22mmHgであった。この不織布の表面陰性荷電量は、それぞれ50.0 $\mu\text{eq/g}$ (上流側)と23.8 $\mu\text{eq/g}$ (下流側)であった。血液の出口側よりサンプリングした血液の血漿中のブラジキニン濃度は7300 $\text{pg/ml}$ であり、濾過前血液血漿中の濃度73 $\text{pg/ml}$ に比べ、上昇が認められた。

#### 【0100】

【実施例24】血液回路に血液ポンプ、ドリップチェンバーを組み込み、ポリエチレンテレフタレート(チップ水分率13ppm)からなる実施例1と同様の方法で製造した不織布の平均繊維直径は、1.7 $\mu\text{m}$ 、平均孔径が9.4 $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.81 $\text{ml/ml}$ 、全細孔面積が0.91 $\text{m}^2/\text{ml}$ 、1~30 $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の98%であった。この不織布を20cm×240cmの大きさに切断し、これを円筒状に巻き、直径(内径)50cm×20cmの円筒容器に充填し、上下両端をポリウレタンによって閉じ、血液の流れが外側から内側へと流れるように血液の下流側の中央部に血液の出口の流路を作った白血球除去器を作成した。これを血液ポンプ、ドリップチェンバーを組み込んだ血液回路に接続し、実施例23と同様の抗凝固剤にACD-Aを用いた血液41を血液プールより、流速50ml

/minで流し、白血球除去を行った。結果、白血球残存率は $10^{-4.9}$ 、であった。濾過終了時の圧力損失は85mmHgであった。この不織布の表面陰性荷電量は、25.5 $\mu\text{eq/g}$ であった。血液出口側から採取した血液の血漿中のブラジキニン濃度は872 $\text{pg/ml}$ であり、濾過前血液血漿中の濃度61 $\text{pg/ml}$ に比べ、顕著な上昇がほとんど認められなかった。

#### 【0101】

【実施例25】比較例2で用いた不織布と同様のポリエチレンテレフタレート不織布に、比較例5と同様な方法で公知の放射線グラフト法により、2重量%の2-ヒドロキシエチルメタクリレートと2重量%のN,N-ジメチルアミノエチルメタクリレート、0.012重量%のメタクリル酸と共に、0.4重量%のt-ブタノールを含んだ水溶液を用いてグラフトした。このときのグラフト率は、グラフトの前後の重量変化より15%であった。この不織布のCWS T値は98 $\text{dyne/cm}$ で、平均孔径が12.3 $\mu\text{m}$ 、全細孔容積が、0.86 $\text{ml/ml}$ 、全細孔面積が0.88 $\text{m}^2/\text{ml}$ 、1~30 $\mu\text{m}$ の孔径の細孔容積が全体の96%であった。この不織布の表面荷電量を実施例1の方法によって測定したところ、陰性荷電量より陽性荷電量が明らかに多いため正確な測定は出来ず、3 $\mu\text{eq/g}$ 以下であった。また、サフラニンOによる色素吸着より、陰性荷電の存在が確認され、更に陰性荷電量が測定され、約9 $\mu\text{eq/g}$ であった。更に、実施例1の方法によってブラジキニン上昇性を求めたところ、血漿中のブラジキニン濃度は400 $\text{pg/ml}$ であり、極僅かの上昇しか認められなかった。各実施例及び比較例の結果を表1~表6に示す。

#### 【0102】

#### 【表1】

実施例	実施例1	実施例2	実施例3	実施例4	比較例1	比較例2
表面陰性荷電量 ( $\mu\text{eq/g}$ )	25.5	26.0	25.0	21.0	41.2	79.5
ブラジキニン値 ( $\text{pg/ml}$ )	772	912	650	491	4000	14000
素材	PET	PET	PET	PET	PET	PET
形状	不織布	不織布	不織布	不織布	不織布	不織布
平均孔径 ( $\mu\text{m}$ )	5.3	15.3	12.5	9.2	12.5	12.5
平均繊維直径 ( $\mu\text{m}$ )	1.6	2.4	1.8	1.2	1.7	1.7
CWST ( $\text{dyne/cm}$ )	58	60	58	58	64	66
全孔容積	0.67	0.55	0.61	0.47	0.41	0.86
全孔表面積	0.42	0.40	0.41	0.53	0.38	0.88
孔径分布1~30 $\mu\text{m}$ が全細孔容積の%	75%	75.5%	77%	88%	70%	96%
白血球残存率	$10^{-3.5}$	$10^{-2.2}$	$10^{-3.1}$	$10^{-3.8}$	$10^{-2.5}$	$10^{-4.1}$
充填密度	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09

断面積：49×49mm、厚み3.3mm

【0103】

【表2】

実施例	実施例5	実施例6	比較例3	実施例7	比較例4	比較例5	比較例6	比較例7
表面陰性荷電 量 ( $\mu\text{eq/g}$ )	25.1	25.0	55.0	22.0	53.0	22.0	112	125
フラジキニン 値 ( $\text{pg/ml}$ )	650	650	7200	620	7000	420	12000	14000
素材	PET	PET	PET	PET	PET	PP	PBT/	PBT/
形状	不織布	不織布	不織布	不織布	不織布	不織布	不織布	不織布
平均孔径 ( $\mu\text{m}$ )	11.2	15.2	15.1	12.5	8.5	10.5	8.66	11.5
全細孔容積 ( $\text{ml/ml}$ フィルター)	0.85	0.81	0.75	0.86	0.85	0.84	0.87	0.87
孔径分布 (1 ~30 $\mu\text{m}$ )	98%	97%	71%	96%	97%	95%	97%	96%
全孔表面積 ( $\text{m}^2/\text{ml}$ )	0.89	0.89	0.80	0.95	0.90	0.89	0.93	0.94
平均繊維直径 ( $\mu\text{m}$ )	1.6	1.7	1.6	1.2	1.6	1.2	2.3	1.8
CWST ( $\text{dyne/cm}$ )	58	58	62	60	62	20	102	90
							PBTに MA、H EMAを グラフト	PBTに MA、H EMAを グラフト
白血球残存率	$10^{-4.7}$	$10^{-4.8}$	$10^{-2.8}$	$10^{-4.8}$	$10^{-4.1}$	$10^{-1.8}$	$10^{-2.5}$	$10^{-2.1}$
充填密度	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.1	0.1	0.08

【0104】

【表3】

実施例	実施例8	比較例8	実施例9	実施例10	実施例11	比較例9	実施例12	比較例10
表面陰性荷電 量 ( $\mu\text{eq/g}$ )	23.3	123	24.0	23.0	23.6	118	21.0	128
ブラジキニン 値 ( $\text{pg/ml}$ )	712	13200	712	672	872	12700	472	14400
素材	PET/	PP/PE/	PET	ポリビニ ルホルマ ール/	ポリビニ ルホルマ ール/	ポリビニ ルホルマ ール/	ポリウレ タン/	ポリウレ タン/
形状	不織布	不織布	不織布	スポンジ	スポンジ	スポンジ	スポンジ	スポンジ
平均孔径 ( $\mu\text{m}$ )	12.5	9.9	12.5	8.2	30	8.2	8.8	8.7
全細孔容積 ( $\text{ml/ml}$ フィルター)	0.86	0.87	0.86	0.86	0.82	0.86	0.85	0.85
孔径分布 (1 ~30 $\mu\text{m}$ )	96%	98%	96%	92%	91%	92%	95%	95%
全孔表面積 ( $\text{m}^2/\text{ml}$ )	0.88	0.89	0.88	0.79	0.77	0.79	0.90	0.90
平均繊維直径 ( $\mu\text{m}$ )	1.7	1.5	1.7	—	—	—	—	—
CWST ( $\text{dyne/cm}$ )	102	104	74	74	90	100	88	98
備考	PETに HEMA、DM をグラフト	PP/PEにp- SSA、DMを グラフト	PETに MTG、DMを グラフト	130M A、DM をグラフト	MTG、 DMを グラフト	モノ (2 -メタクリ ロキシエ チル) ア シッドフ ェグ ートを グラフト	MTGを グラフト	HEMA、MA Aを グラフト
白血球残存率	$10^{-4.0}$	$10^{-4.5}$	$10^{-4.3}$	$10^{-4.1}$	$10^{-2.5}$	$10^{-4.1}$	$10^{-4.5}$	$10^{-4.4}$
充填密度	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

【0105】

【表4】

実施例	実施例13	実施例14	実施例15	実施例16	実施例17	実施例18	実施例19	実施例20
表面陰性荷電 量 ( $\mu\text{eq/g}$ )	27.0	24.0	29.0	22.0	28.0	29.0	28.5	28.0
ブラジキニン 値 ( $\text{pg/ml}$ )	820	620	900	650	870	970	850	950
素材	PET/	PET/	PP/PE/	PP/PE/	ポリウレ タン/	ポリビニ ルホルマ ール/	PET	PET/
形状	不織布	不織布	不織布	不織布	スポンジ	スポンジ	不織布	不織布
平均孔径 ( $\mu\text{m}$ )	8.2	12.5	9.9	9.9	8.6	8.2	12.5	12.5
孔径分布 (1 ~30 $\mu\text{m}$ )	98%	96.5 %	98%	98%	95%	92%	96.5 %	96.5 %
平均繊維直径 ( $\mu\text{m}$ )	1.6	1.7	1.5	1.5	—	—	1.7	1.7
CWST ( $\text{dyne/cm}$ )	58	58	84	82	78	80	74	102
備考	メチルエ ステル化	メチルエ ステル化	メチルエ ステル化	アミド化	メチルエ ステル化	メチルエ ステル化	MTGを グラフト	DM/H EMA/ MMA/ MAAポ リをコ ート
白血球残存率	$10^{-4.1}$	$10^{-3.9}$	$10^{-4.2}$	$10^{-4.1}$	$10^{-4.4}$	$10^{-4.3}$	$10^{-4.3}$	$10^{-4.1}$
充填密度	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

【0106】

【表5】

実施例		実施例21	比較例11	実施例22	比較例12
表面陰性荷電量 ( $\mu\text{eq/g}$ )		25	46	25.5	42.6
ブラジキニン値 ( $\text{pg/ml}$ )		750	4700	725	5700
素材		PET	PET	PET	PET
形状		不織布	不織布	不織布	不織布
平均 孔径	上流側			9.4	32.2
	下流側 ( $\mu\text{m}$ )	11.2	15.1	9.4	32.2
下 流 側	全細孔容積 ( $\text{ml/ml}$ フィルター)	0.95	0.85	0.91	0.40
	孔径分布 1~30 $\mu\text{m}$	98%	97%	98%	60%
	全細孔面積 $\text{m}^2/\text{ml}$	0.89	0.89	0.88	0.50
平均 繊維 直径	上流側	2.2	2.2		
	下流側 $\mu\text{m}$	1.6	1.6	1.7	1.7
下 流 側	CWST ( $\text{dyne/cm}$ )	58	62	60	62
白血球残存率		$10^{-4.5}$	$10^{-4.4}$	$10^{-4.9}$	$10^{-2.1}$
備考					
充填密度		0.15	0.15	0.15	0.15

【0107】

【表6】



実施例		実施例23	比較例13	比較例14	実施例24	実施例25
表面陰性荷電量 ( $\mu\text{eq/g}$ )		23.6	41.2 (下流)	50.0 (上流)	25.5	9.0
ブラジキニン値 ( $\text{pg/ml}$ )		872	4500	7300	872	400
素材		PET	PET	PET	PET	PET
形状		不織布	不織布	不織布	不織布	不織布
平均孔径	上流側	30	30	30	9.4	12.3
	下流側 ( $\mu\text{m}$ )	9.2	12.5	12.5		
下流側	全細孔容積 ( $\text{ml/ml}$ フィルター)	0.82	0.86	0.86	0.81	0.86
	孔径分布 1~30 $\mu\text{m}$	98%	98%	97%	98%	96%
	全細孔面積 $\text{m}^2/\text{ml}$	0.92	0.88	0.89	0.91	0.88
平均繊維直径	上流側	2.4	2.4	2.4	1.7	
	下流側 $\mu\text{m}$	1.6	1.7	1.8		
下流側	CWST ( $\text{dyne/cm}$ )	60	60	60	58	98
白血球残存率		$10^{-4.5}$	$10^{-4.9}$	$10^{-4.9}$	$10^{-4.9}$	
備考						
充填密度		0.15	0.18	0.18	0.05	